AUS DER ABTEILUNG FÜR STRAHLENBIOLOGIE UND ISOTOPENFORSCHUNG (Leiter Prof. Dr. Dr. E. H. GRAUL) AM STRAHLENINSTITUT (Prof. Dr. R. DU MESNIL DE ROCHEMONT) DER PHILIPPS-UNIVERSITÄT MARBURG/LAHN

Ein Beitrag zur Radioisotopendiagnostik: Hämatologische Untersuchungen mit ^{51}Cr und ^{59}Fe

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin
der hohen Medizinischen Fakultät der Philipps-Universität
Marburg/L.

Vorgelegt von
HORST KUNI
aus Wertheim/M.

2. durchgesehene Auflage Marburg 2006

Erstdruck:
MARBURG 1963

AUS DER ABTEILUNG FÜR STRAHLENBIOLOGIE UND ISOTOPENFORSCHUNG (Leiter Prof. Dr. Dr. E. H. GRAUL) AM STRAHLENINSTITUT (Prof. Dr. R. DU MESNIL DE ROCHEMONT) DER PHILIPPS-UNIVERSITÄT MARBURG/LAHN

Ein Beitrag zur Radioisotopendiagnostik: Hämatologische Untersuchungen mit ^{51}Cr und ^{59}Fe

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin
der hohen Medizinischen Fakultät der Philipps-Universität
Marburg/L.

Vorgelegt von
HORST KUNI
aus Wertheim/M.

2. durchgesehene Auflage Marburg 2006

Erstdruck:
MARBURG 1963

Angenommen von der Medizinischen Fakultät der Universität Marburg am 26.11.1963
gedruckt mit Genehmigung der Fakultät

Dekan: Prof. Dr. med. H. JACOB.

Referent: Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. E. H. GRAUL.

Correferent: Prof. Dr. med. Fr. LINNEWEH.

2. durchgesehene Auflage zur elektronischen Publikation Marburg 2006

MEINEN LIEBEN ELTERN
IN DANKBARKEIT GEWIDMET

INHALT

TEIL I

BLUTVOLUMEN- UND ERY-VITA-BESTIMMUNG MIT ^{51}CR-MARKIERTEN ERYTHROZYTEN

Einleitung ..... Seite 9

Blutvolumen-Bestimmung mit ^{51}Cr-Erythrozyten ..... » 10

- Theoretische Grundlagen ..... » 10
- Praktische Durchführung ..... » 12
- Homologe Schnellmethode (mit Blutkonserve) ..... » 14
- Autologe Schnellmethode (mit Ionenaustauscher) ..... » 15

^{51}Cr-Ery-Vita 19

- Die Einführung der Radionuklide in die Erythrozyten – Lebenszeit – Bestimmung ..... » 19
- Erythrozyten-Lebenszeit-Bestimmung mit ^{51}Cr-Erythrozyten ..... » 21
- Umrechnung der ^{51}Cr-Ery-Vita in mittlere Erythrozyten-Lebenszeit ..... » 24

TEIL II

EISENSTOFFWECHSEL UND FERROKINETICS

- Einführung in den Eisenstoffwechsel ..... Seite 26
- Ferrokinetics ..... » 27
- Mathematische Grundlagen der Eisenstoffwechsel-Berechnung ..... » 30
- Bestimmung der spezifischen Aktivität und der Ratenkonstanten r_3 mit Desferrioxamin ..... » 35
- Die Untersuchung der Utilisationskurve ..... » 37
- Entwicklung der Utilisationsgleichung ..... » 38
- Weitere Anwendungen der Utilisationsgleichung ..... » 45
- Die Berechnung der mittleren Erythrozyten-Lebenszeit ..... » 46

TEIL III
PRAXIS DER ERYTHROKINETICS UND MESSTECHNIK

Praxis der Erythrokinetics ..... Seite 47
Messtechnik ..... » 50
Messung der Blutproben ..... » 50
Messung des Sammelurins ..... » 54
Oberflächenmessung ..... » 57
Strahlendosimetrischer Anhang ..... » 61

Danksagung ..... » 62
Zusammenfassung ..... » 62
Literatur ..... » 63
Lebenslauf ..... » 75
Nachwort zur 2. Auflage ..... » 77
Ausführliche Zusammenfassung ..... » 78
Summary ..... » 79
Résumé ..... » 80
Riassunto ..... » 81

TEIL I

Blutvolumen- und Ery-Vita-Bestimmung mit ^{51}Cr-markierten Erythrozyten

EINLEITUNG

Die Bestimmung von Volumina und Umsatzraten im Stoffwechsel mit Hilfe von Indikatoren wurde durch die Einführung der Radionuklide zu einer sehr genauen und relativ einfachen Methode, die wertvolle Informationen liefern kann. Schon kurz nach der ersten Anwendung der Radionuklide in der medizinischen Forschung durch v. HEVESY machten HAHN et al. die ersten hämatologischen Untersuchungen mit ^{59}Fe [87, 88]. Die Markierung von Erythrozyten mit ^{51}Cr wurde 1950 von GRAY und STERLING eingeführt [78, 79, 182]. Bald wurden beide Radionuklide simultan zur einer hämatologischen Untersuchung eingesetzt, für die GIBLETT et al. die Bezeichnung « Erythrokinetics » prägten [66]. Die herkömmliche Erythrokinetic-Methode ist recht umständlich und gewährt nicht einmal die grösstmögliche Information, wie sie durch Anwendung des Modells von POLLYCOVE möglich wäre [153, 157]. Die von POLLYCOVE vorgeschlagene Methode bietet allerdings soviel zusätzliche Schwierigkeiten, dass sie noch weniger als Routinemethode brauchbar ist.

Die vorliegende Arbeit hat nun als Zielsetzung, die Methode der erythrokinetischen Untersuchung so zu vereinfachen, dass sie bei Verwendung des Modells von POLLYCOVE als Routinemethode brauchbar ist, grösstmögliche Informationen zu liefern. Dabei werden die einzelnen Schritte, aus denen sich die Untersuchung zusammensetzt, getrennt erläutert, die Versuche zu ihrer Verbesserung geschildert und im Vergleich mit der Literatur diskutiert.

BLUTVOLUMEN-BESTIMMUNG MIT ^{51}CR-ERYTHROZYTEN

THEORETISCHE GRUNDLAGEN.

Die Blutvolumen-Bestimmung erfolgt nach dem Verdünnungsprinzip. Dem unbekannten Volumen wird eine bestimmte Menge eines Indikators *I* zugesetzt. Nach vollständiger Durchmischung wird eine kleine Probe entnommen und ihre Indikatorkonzentration *i* bestimmt. Das Volumen errechnet sich dann nach der Formel (1).

$$V\,[\mathrm{ml}] = \frac{I}{i\left[\dfrac{1}{\mathrm{ml}}\right]} \qquad (1)$$

Die Genauigkeit der Volumenbestimmung hängt also von der Genauigkeit ab, mit der die in das Volumen gebrachte Indikatormenge und seine Konzentration nach Vermischung gemessen werden kann. Fehlerquellen liegen vor allem in einer unvollständigen Durchmischung und in einer Abwanderung von Indikator aus dem Volumen vor der Probenentnahme.

Bei der Blutvolumen-Bestimmung stehen grundsätzlich zwei Möglichkeiten offen:

Entweder man injiziert einen Indikator, der sich nur in Plasma verteilt oder einen an die Erythrozyten gebundenen, der also das Erythrozyten-Volumen ergibt, und errechnet das komplementäre Volumen mit Hilfe des Hämatokrits. Selbstverständlich kann man auch mit zwei Indikatoren Plasma- und Erythrozyten-Volumen simultan bestimmen oder das Gesamtvolumen mit einem Indikator, der sich beliebig zwischen Erythrozyten und Plasma verteilt.

An den Indikator müssen folgende Ansprüche gestellt werden:

Er muss

1. möglichst physiologisch und für den Patienten unschädlich sein,
2. eine grösstmögliche Verweilzeit in der Blutbahn besitzen,
3. leicht applizierbar sein,
4. mit geringstem messtechnischem und zeitlichem Aufwand ein möglichst genaues Ergebnis liefern,
5. billig und leicht zu beschaffen sein.

Zur Bestimmung des Plasma-Volumens wurden Farbstoffe (z.B. Evans Blue, T-1824) oder mit Radionukliden markierte Eiweiße verwendet (z.B. mit $^{51}CrCl_3$ markiertes Plasma oder, besonders verbreitet, ^{131}J-markiertes Human-Albumin) (AUST et al. [3], BARTOLOMEI et al. [6], BERSON and YALOW [14], CHAPIN and ROSS [30], CRISPEL et al. [36], ERICKSON et al. [51], FIELDS et al. [55], FRANK and GRAY [61], FRIENKEL et al. [62], GIBSON et al. [67, 69], GRAY and FRANK [77], GREGERSON et al. [82, 83], HARRIS and GIBSON [95], HLAD and TANZ [106], MCCOMBS and LAWRENCE [137], NACHMANN et al. [144], PRICE and LONGMIRE [159], SCHULTZ et al. [169], SEED et al. [172], SMITH et

al. [177], SMOLIK et al. [178], STEINBECK [180], STORAASLI [183], VEREL [195], WASSERMANN et al. [201]. Alle diese Stoffe haben den entscheidenden Nachteil, daß sie sich recht schnell mit dem Lymphraum, dem extrazellulären Raum und z.B. in pathologischen Fällen mit Oedem- und Ascites-Flüssigkeiten ins Gleichgewicht setzen (BERSON et al. [15], GITLIN [71], GREGERSON and RAWSON [83], NOBLE and GREGERSON [147]).

Schon bald war man bestrebt, die korpuskulären Anteile des Blutes zu markieren. Die Indikatoren CO, ^{42}K, Thorium B, ^{59}Fe, ^{86}Rb und ^{32}P bieten entweder meßtechnische Schwierigkeiten oder verlassen den Erythrozyten relativ rasch (BERLIN et al. [10, 11, 13], BERSON et YALOW [14], GIBSON et al. [69], GRAUL und HESS [75], HAHN et al. [90], v. HEVESY et al. [102, 103, 104], MEENLY et al. [139], MOLLISON et al. [141], NACHMANN et al. [144], NOMOF et al. [148], REVE and VEALL [163], SCHWAIGER und SCHMEISSER [170], SMITH et al. [177], TUDHOPE and WILSON [192], WALLER und SCHMIDTS [198], WASSERMANN et al [201], YALOW and BERSON [206]).

GRAY und STERLING haben entdeckt, daß die Erythrozyten eine geringe Menge Chrom enthalten (ca. 20 µg/100 ml) und bei Inkubation mit $Na_2{}^{51}CrO_4$ weiteres Chrom aufnehmen. Sie konnten zeigen, daß Chrom in seiner sechswertigen Form die Erythrozyten-Membran durchdringen kann. Im Erythrozyten wird es dann zur dreiwertigen Form reduziert, die vom Globin des Hämoglobins gebunden wird (GRAY and STERLING [78, 79], STERLING and GRAY [182], s. auch SCHMIDT [167]). Die Aufnahme des Chroms geht relativ schnell vonstatten; sie erreicht bei 37° C in 5 min ca. 60 %, bei Zimmertemperatur denselben Wert in ca. 15 min. Die Grösse des Einbaus ist proportional zum Hämatokrit, also im Erythrozytenbrei optimal (BOCK et al. [19]), MOLLISON and VEALL [142]). Leicht saures pH begünstigt die Größe und die Geschwindigkeit des Einbaus wesentlich. Hier hat sich am besten ACD-Puffer bewährt (Acid. citr. 0,5 g %, Na citr. 1,4 g %, Dextrose 1,5 g %, pH 5,1) (BRANTE [27], MOLLISON and VEALL [142], NECHELES et al. [146], OWREN et al., [149]). Nach Vollblutmarkierung und einmaligem Waschen der Erythrozyten nach der Bebrütung beträgt die Aktivität des ungebundenen ^{51}Cr nur noch ca. 0,5 % der Erythrozyten-Aktivität; die Erythrozyten sind also injektionsfertig. Bei Bebrütung des Erybreies empfiehlt sich zweimaliges Waschen, da die Waschwirkung des Plasmas fortfällt.

Nach Injektion haben die Erythrozyten und das ^{51}Cr in ihnen eine grosse Verweilzeit. Über Stunden ändert sich die Aktivität praktisch nicht und fällt innerhalb des ersten Tages nur um ca. 2 %. Diese Beobachtung bestätigten SMOLIK et al. [178]. Den Frühabfall (ca. 10 %) innerhalb des ersten Tages, den DONOHUE et al. beschreiben, konnten wir nicht beobachten [39].

^{51}Cr erfüllt die oben gestellten Anforderungen an einen Indikator zur Blutvolmen-Bestimmung so optimal, dass seine Anwendung weite Verbreitung gefunden hat (BERLIN et al [9], BOCK et al. [19, 20, 21], CRAWFORD and DE GRUCHY [35], DONOHUE et al. [38], GEHRMANN [65], GIBLETT et al. [66], GRAY and STERLING [79], GUNTON and PAUL [85], v. HEVESY [101], HUFF and FELLER [111], MOLLISON and VEALL [142], NOMOF et al. [148], PRENTICE [158], READ [160], REILLY [164], SCHMIDT [167], STERLING and GRAY [182], WADSWORTH [197], WEINSTEIN and BEUTLER [202]).

Es wurde vorgeschlagen, bei jeder Markierung einen Teil des markierten Erythrozyten zu zentrifugieren und die Aktivität des Überstandes bei de Volumen-Bestimmung zu berücksichtigen. Der Fehler von ca. 0,25 %, de bei der Vernachlässigung der freien Aktivität auftritt, steht aber in keinem Verhältnis zum Gesamtfehler der Methode, so daß seine Vermeidung den Aufwand nicht lohnt.

PRAKTISCHE DURCHFÜHRUNG.

Für eine einfache Blutvolumen-Bestimmung ergibt sich folgender Arbeitsgang:

Entnahme von 8 ml Patientenblut, das in einem Zentrifugenglas mit 2 ml ACD-Puffer vermischt wird. Dann werden etwa 20 µC $Na_2{}^{51}Cr_4$ (*) zugesetzt. Nach gründlichem Vermischen wird das Blut 30 min. bei 37° C inkubiert.

Anschliessend wird 15 min. bei 1700 g zentrifugiert und das Plasma abpipettiert. Es werden 20 ml einer kalten physiologischen Kochsalzlösung (4° C) zugesetzt und gründlich gemischt. Es wird wie oben zentrifugiert und die Waschflüssigkeit abpipettiert. Danach wird das abgezogene Plasma durch physiologische Kochsalzlösung ersetzt und gründlich gemischt. 0,1 ml des ^{51}Cr-« Blutes » werden mit 9,9 ml aqua dest. verdünnt. 1 ml dieser 1:100 Verdünnung dient als Standard. Reinjektion einer genau abgemessenen Menge des ^{51}Cr-Blutes. Selbstverständlich muss von der Entnahme bis zur Reinjektion des Blutes steril gearbeitet werden.

Bei pathologischen Kreislaufverhältnissen (z. B. Vitien, dekompensierte Herzinsuffizienz, Polycythämie) kann die Zeit bis zur vollständigen Durchmischung erheblich verlängert sein (15-20 min.) (v. HEVESY [101], NOBLE and GREGERSON [147]). Deshalb entnimmt man am besten 30-90 min. nach der Injektion aus einer Vene des anderen Armes ohne Stauung eine Blutprobe von ca. 2 ml, die auf zwei Messgläschen verteilt und auch zur Hämatokrit-Bestimmung benutzt wird (Mehrfachbestimmung!). Wir verwenden die Hämatokrit-Methode nach van ALLEN. Die Röhrchen werden 55 min. bei 1700 g (am Boden des Röhrchens) zentrifugiert. Das in der Ery-Säule eingeschlossene Plasma

(*) Wir beziehen das $Na_2{}^{51}CrO_4$ in steriler isotonischer Lösung mit pH 5,4 und einer spezifischen Aktivität von ca. 100 µC/µg von Amersham, Great Britain.

beträgt innerhalb des üblichen Hämatokrit-Bereiches ziemlich konstant ca. 2 % und wurde vernachlässigt (CHAPIN and ROSS [30], CHAPLIN and MOLLISON [31], VASQUEZ et al. [194]).

Die Berechnung des Erythrozyten-Volumens EV erfolgt nach der Formel (2).

$$EV = \frac{I_{St} \times Verd. \times V_{inj} \times \frac{Htk}{100}}{Mittelwert\ d.\ Blutproben} \qquad (2)$$

I_{St} = Impulsrate von 1 ml Standard
Verd. = Verdünnungsfaktor, hier 100
V_{inj} = Injiziertes Volumen
$\frac{Htk}{100}$ = Hämatokrit als Fraktion von 1

Das Gesamtblut-Volumen BV errechnet sich aus Gleichung (3), wobei 0,91 der Umrechnungsfaktor des venösen auf Gesamtkörper-Hämatokrit ist (CHAPLIN et al. [33]), und das Plasma-Volumen aus der Differenz von Gesamtblut- und Erythrozyten-Volumen [Gleichung (4)].

$$BV = \frac{EV \times 100}{Htk \times 0{,}91} \qquad (3)$$

$$PV = BV - PV \qquad (4)$$

Das folgende Beispiel (*) soll die Berechnung veranschaulichen.

Name: A. H. ♂; Alter: 42 J.; Grösse 1,78 m; Gewicht: 99 kg; Hb: 90 %; Ery: 4,1 Mill./mm^3.

Diagnose: Dekompensierte Herzinsuffizienz.

Injektion von 10 ml 51Cr-Erythrozyten.

Standard 1:100		1 ml	4290 I/'	Nulleffekt: 83 I/'
		- NE	4207 I/'	
Blutprobe:	1. Teil	0,598 ml	419 I/'	= 562 I/' /ml
		- NE	336 I/'	
	2. Teil	1,029 ml	635 I/'	
		- NE	552 I/'	= 537 I/' /ml
			Mittel	= 550 I/' /ml

(*) Die Blutvolumenbestimmungen erfolgten ebenso wie die Messungen der ^{51}Cr-Ery-Vita und des Eisenstoffwechsels in enger Zusammenarbeit mit den Herren Prof. Dr. H. E. Bock und Doz. Dr. H. Nieth (Med. Univ. klinik Marburg, Direktor: Prof. Dr. H. E. Bock). Für wertvolle Anregungen und Unterstützung sei an dieser Stelle gedankt.

Hämatokrit: 37 % Norm

$$EV = \frac{4207 \times 10 \times 100 \times 0{,}37}{550} = 2830 \text{ ml} = 28{,}6 \text{ ml/kg} \qquad 24 \text{ ml/kg}$$

$$BV = \frac{2830 \times 100}{37 \times 0{,}91} = 8405 \text{ ml} = 84{,}9 \text{ ml/kg} \qquad 64 \text{ ml/kg}$$

$$PV = 8405 - 2830 = 5575 \text{ ml} = 56{,}3 \text{ ml/kg} \qquad 40 \text{ ml/kg}$$

Befund: Bei einem Erythrozyten-Volumen an der oberen Grenze der Norm erhöhtes Plasma- und Gesamtblutvolumen.

HOMOLOGE SCHNELLMETHODE (MIT BLUTKONSERVE).

Die obige Methode ist trotz ihrer Einfachheit noch zu zeitraubend, um für Notfälle und umfangreiche Routinebestimmungen brauchbar zu sein. Gerade bei Notfällen ist aber eine Blutvolumenbestimmung sehr wichtig, da Hb und Ery-Zahlen keinen Hinweis auf die Grösse eines akuten Blutverlustes geben. Er kann nur aus dem Kreislaufverhalten grob abgeschätzt werden. Dieses Anwendungsgebiet ist bisher die Domäne der Plasmavolumen-Bestimmung mit ^{131}J-Human-Albumin.

Um dieselbe Einfachheit und Schnelligkeit zu erreichen, muss man einen Vorrat markierter, gewaschener Erythrozyten schaffen, der jedem Individuum sofort injiziert werden kann (SMOLIK et al. [178]). Dazu wurde eine Blutkonserve der Gruppe 0, rh neg. (d) markiert. Die markierte Blutkonserve kann mindestens eine Woche verwendet werden, ohne dass eine wesentliche Hämolyse bei der Lagerung oder nach Reinjektion vor der Probenentnahme eintritt, wenn die Erythrozyten sehr schonend bei der Markierung behandelt werden und absolute Sterilität eingehalten wird.

Das Absaugen des Plasmas und der Waschflüssigkeit geschieht durch Punktionskanülen, 150 mm lang und 2 mm Ø, die über einen Schlauchkonus an eine Wasserstrahlpumpe angeschlossen und langsam durch den Gummistopfen der Konservenflasche vorgeschoben werden. Auf die Luftkanüle wird ein Wattefilter aufgesetzt, um Luftkeime zurückzuhalten. Es empfiehlt sich, die Wasserstrahlpumpe nur schwach ziehen zu lassen. Das Zentrifugieren erfolgt in einer Christ-Zentrifuge 20 min. bei 1500 g. Zwischen Konservenflasche und V_2A-Becher der Zentrifuge wird Wasser gefüllt, um die Belastung des Glases herabzusetzen. Als Waschflüssigkeit dient physiologische Kochsalzlösung pro infusione, steril und pyrogenfrei.

Von dieser Markierung wird einmal mit 0,1 ml eine 1:100 Verdünnung angesetzt. 1 ml davon wird als Standard bei jeder Blutvolumen-Bestimmung, die mit dieser Charge vorgenommen wird, mitgemessen. Man erspart sich

dadurch jede Korrektur auf Zerfall des Radionuklids und Schwankungen der Messapparatur. Die 10 ml-Spritzen werden in der Abteilung für Strahlenbiologie und Isotopenforschung abgefüllt und verschlossen auf die Stationen getragen. Als Verschluss bewährten sich Kanülen, die etwa 10 mm vor dem Konus abgezwickt und zugequetscht wurden.

Die Gefahren einer homologen Transfusion belasten auch diese Methode. An erster Stelle steht die Serumhepatitis. Unstimmigkeiten in Blutgruppen-Systemen ausser ABO und Rh und in ABO- und Rh-Untergruppen spielen eine untergeordnete Rolle. Bei Rh-negativem (d) Blut besteht noch die Möglichkeit eines erhöhten Titers C oder E (cdE, CdE, Cde). Die Gefahren werden dadurch verringert, dass der Blutbank für die relativ seltene, aber oft benötigte Gruppe 0 rh-neg. meist ein zwar kleiner, aber zuverlässiger und gut bekannter Spenderstamm zur Verfügung steht. Bis einmal die Immunisierung gegen Hepatitis möglich sein wird, bleibt die Anwendung markierten Konservenblutes auf Notfälle beschränkt, bei denen ohnehin meist eine Transfusion angeschlossen wird.

AUTOLOGE SCHNELLMETHODE (MIT IONENAUSTAUSCHER).

Als Schnellmethode wurde vorgeschlagen, ACD-Puffer und $Na_2{}^{51}CrO_4$ in eine Spritze zu füllen und Patientenblut dazuzuziehen. Nach kurzer Inkubationszeit (5-10 min.) wird durch Aufziehen von L-Ascorbinsäure das Chrom reduziert, um nach Reinjektion eine in-vivo-Markierung durch das ungebundene Chrom zu vermeiden (READ [160]). Das reduzierte Chrom kann die Erythrozytenmembran nicht mehr durchdringen und markiert die Plasma-Proteine. Eine genau abgemessene Menge wird reinjiziert und von einem zurückbehaltenen Rest ein Standard angesetzt und die Aktivität des Plasmas bestimmt. Nach Durchmischung im Kreislauf muss ausser der Indikatorkonzentration des Vollblutes auch die des Plasmas gemessen werden. Diese Aufarbeitung der Messproben raubt aber wieder einen grossen Teil der Zeit, die man durch Einsparung der Waschung gewonnen hat. Verzichtet man auf diese Aufarbeitung, ist auch eine Blutvolumenbestimmung möglich. Bei der Probenmessung ist die Verteilung des Tracers zwischen Erythrozyten und Plasma an sich gleichgültig, solange die Probe repräsentativ für das Gesamtvolumen ist. Aber die Unkenntnis des Anteils der markierten Plasmaproteine bringt schwer übersehbare Fehler durch ihren Abstrom in den extravasalen Raum.

Um patienteneigene Erythrozyten zu einer Schnellmethode verwenden zu können, entschlossen wir uns, zur Entfernung des ungebundenen Chroms einen Ionenaustauscher zu benützen. Auf

früheren Erfahrungen bei der Reinigung ^{131}J-markierter Plasmaproteine von ungebundenem Jod fussend wurde die dabei bewährte Methode von MCFARLANE [138] auch hier erprobt. Wir sehen uns bei der Präparation des Ionenaustauschers drei Forderungen gegenübergestellt:

1. Die Erythrozyten sollen den Ionenaustauscher ohne Anwendung grösseren Drucks leicht und ohne mechanische Alteration passieren.
2. Der osmotische Druck und das pH dürfen nicht über die physiologischen Grenzen hinaus verändert werden.
3. Das Blut muss nach Passage des Austauschers steril und pyrogenfrei sein.
4. Das ungebundene $^{51}CrO_4^{2--}$-Ion soll möglichst quantitativ entfernt werden.

Da die Methode besonders zeitsparend sein soll, müssen noch folgende Gegensätze auf einen optimalen Kompromiss gebracht werden: Zur Einsparung von Radionuklid sollte das Ionenaustauscher-Säulenvolumen möglichst klein gehalten werden. Je grösser dagegen das Säulenvolumen, desto schneller kann das Blut hindurchströmen ohne Verminderung des Ionenaustausch-Effektes.

Nach grundsätzlicher Erprobung der Methode an einer Säule mit 5 ml Harzvolumen wurde für den Routine-Gebrauch folgende Anordnung entwickelt:

Verwendbar ist jeder stark basische Anionenaustauscher durchschnittlicher Vernetzung (8% DVB) mit einer Siebzahl zwischen 20 und 50 mesh, wie z. B. Amberlite IRA 400, Dowex 2 (8% DVB), Doulite A-101 D, Merck III. Ist man zur Sterilisation im Autoklaven gezwungen, ist Dowex 2 wegen seiner Temperaturfestigkeit bis 150° C in der Cl-Form vorzuziehen. Nach zweistündigem Quellen in aqua dest. wird der Ionenaustauscher durch Aufschwemmen in konzentrierter NaCl-Lösung mit Cl-Ionen beladen. Nach einer Stunde wird der Ionenaustauscher zweimal mit aqua dest. und einmal mit 0,9 g % NaCl-Lösung und 3,8 g % Na-citr.-Lösung (Verhältnis 5:1) aufgeschwemmt. Der Austauscher wird dann durch Sog in einen 200 mm langen, durch einen Glaswollpropf abgeschlossenen PVC-Schlauch von 2,5 mm lichter Weite und 0,5 mm Wandstärke eingefüllt. Die fertige Säule erhält

als Abschluss auch auf der anderen Seite einen Glaswollpropf und wird durch Stopfen (Rekord-Konus) oder für längere Aufbewahrung durch Zuschmelzen verschlossen. Bei starrem Schlauchmaterial ist die lichte Weite entsprechend grösser zu wählen, sodass der Schlauch auf einem Rekord-Konus festsitzt. Für Dampfsterilisation ist auf genügende Wärmefestigkeit zu achten. Die fertige Säule wird entweder im Autoklaven oder durch Bestrahlung sterilisiert. Fehlen für diese Methoden die technischen Voraussetzungen, kann man zur chemischen Sterilisation greifen. Dazu lässt man den Ionenaustauscher in 3 N-Natronlauge quellen und belädt ihn nach dem Auswaschen der Natronlauge durch 3 N-Salzsäure, worauf die oben geschilderte Präparation fortgesetzt wird. Die verwendeten Flüssigkeiten und Geräte müssen natürlich steril und pyrogenfrei sein, was sich auch bei den übrigen Sterilisationsverfahren für die Chlorid-Citrat-Mischung empfiehlt.

Die beschriebene Säule ist für einen Durchsatz von 2 ml Vollblut in 200 sec. berechnet und hat ein Totvolumen von ca. 0,3 ml, also 15 %. Unter diesen Bedingungen wird das ungebundene Chromat praktisch quantitativ entfernt. Nach Passage der Säule befinden sich ca. 93 % der Aktivität in den Erythrozyten und ca. 7 % im Plasma. Bei der Aktivität im Plasma handelt es sich um Chrom, das durch reduzierende Substanzen im Blut zur 3-wertigen Form reduziert und dann von den Plasmaeiweissen gebunden wurde. Der bei Verwendung dieser Markierung durch den Abstrom der Plasmaeiweisse in den extravasculären Raum auftretende Fehler beträgt nur noch ca. 7 % des Fehlers bei ausschliesslicher Verwendung von markierten Proteinen (wie z.B. ^{51}Cr-markiertem Plasma oder ^{131}J-Humanalbumin). Er ist auch noch beträchtlich geringer als der Fehler, mit dem die oben erwähnte Methode von READ [160], bei Verzicht auf getrennte Messung des Plasmas belastet ist. Ein weiterer Vorteil ist die Behandlung des Blutes in einem geschlossenen System, wodurch Verunreinigungen durch Staub und Luftkeime ausgeschlossen sind.

Gegenüber der üblichen Methode der ^{51}Cr-Markierung ist es möglich, die Zeit zwischen Blutabnahme und Reinjektion, die vorher mindestens 90-120 min. betrug, bis auf 10 min. herabzudrücken. Dabei wird folgendermassen vorgegangen: In eine 2 ml-

Spritze werden zu 04, ml ACD-Puffer und 50 µC ^{51}Cr 1,6 ml Blut gezogen. Durch leichtes Umwenden der Spritze wird der Inhalt gemischt. Nach 5 min. Inkubationszeit wird die Spritze an das eine und eine leere Spritze an das andere Ende der Austauschersäule gesetzt. Nun wird das Blut in 200 sec. möglichst gleichmässig durch die Säule gespritzt. Es schliesst sich die übliche Methode der Blutvolumen-Bestimmung an, wobei die Verdünnung des Standards 1:1000 beträgt (0,1 ml Blut auf 100,0 ml mit

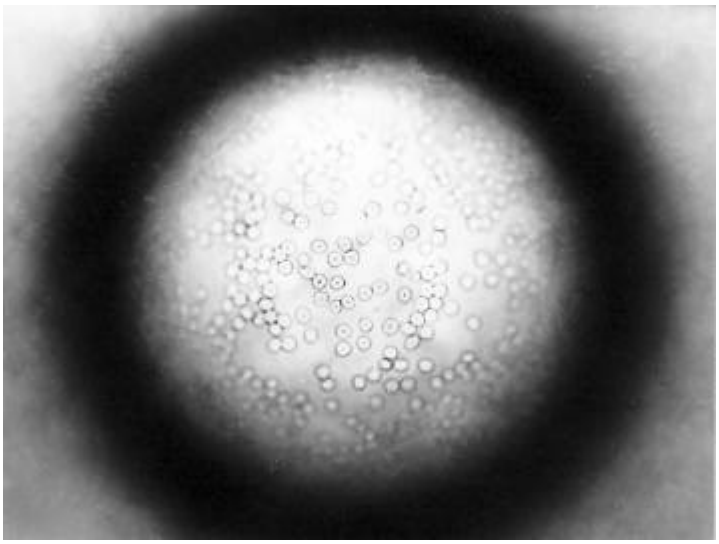

ABB. 1

Mikrophoto zum Größenvergleich zwischen den Kunstharz-Körnern des Ionenaustauschers und den Erythrozyten. Abbildungsmassstab: etwa 1: 280.

aqua dest. auffüllen). Besonders vorteilhaft ist die Verwendung dieser Methode zusammen mit der vollautomatischen Mess- und Rechenapparatur Volemetron (*). Die Verwendung von Plastikspritzen zum Einmalgebrauch spart die Dekontaminierung. Dabei kann es allerdings nötig werden (wenn kein Volemetron zur Verfügung steht) bei manchen Typen das injizierten Volumen durch Wägung der Spritze vor und nach Injektion (und Berücksichtigung des spezifischen Gewichtes des Blutes!) zu ermitteln.

(*) Fa. Atomium

Der Materialwert der Austauschersäule beträgt nur einige Pfennige, sodass sich eine Regeneration und Dekontamination nicht lohnt und ein einmaliger Gebrauch wirtschaftlicher ist.

Die Abb. 1 demonstriert den Grössenunterschied zwischen einem grossen Kunstharzkorn des Ionenaustauschers und den kleinen Erythrozytenscheibchen. Es leuchtet ein, dass auch in einer enggepackten Säule die Zwischenräume zwischen den Körnern so gross sind, dass das Vollblut ohne nennenswerten Widerstand passieren kann. Die mechanische Beanspruchung der Erythrozyten beim Vorbeiströmen an der glatten Harzoberfläche ist wohl bedeutend geringer als die « Stauchung » bei zweimaligem Zentrifugieren je 15 min. bei 1700 g. Osmotischer Druck, pH und Citrat-Konzentration bleiben unverändert. Für die Markierung von Erythrozyten eines Patienten mit einem hämolytischen Ikterus zur Bestimmung der ^{51}Cr-Ery-Vita ist die schonende Ionenaustauscher-Methode besonders indiziert. Die genannten Vorteile sprechen dafür, diese Schnellmethode nicht nur in Notfällen, sondern auch für die Routinebestimmung einzusetzen.

^{51}CR-ERY-VITA

DIE EINFÜHRUNG DER RADIONUKLIDE IN DIE ERYTHROZYTEN – LEBENSZEIT – BESTIMMUNG.

Die Verwendung markierter Erythrozyten zur Blutvolumen-Bestimmung gestattet gleichzeitig die Bestimmung einer weiteren hämatologisch sehr interessanten Grösse, der Erythrozyten-Lebenszeit. Zuvor war ihre Ermittlung nur mit der von ASHBY entwickelten Technik [1, 2] möglich. Nach Transfusion von mind. 500 ml gruppenungleichen, aber verträglichen Blutes (besonders der Systeme ABO und MN) wird in regelmässigen Zeitabständen eine Blutprobe mit Antiserum gegen die Spenderblutgruppe in eine Ery-Zählpipette aufgezogen und die agglutinierten Erythrozyten gezählt. Trägt man die erhaltenen Zahlen als Ordinate gegen die Zeit als Abszisse auf, so erhält man eine Gerade, die ungefähr bei 120 Tagen die Zeitachse schneidet [BOCK et al [18], EVANS et al. [52, 53], CHAPLIN and MOLLISON [32], HURLEY and WEISMANN [116], HYMANN et al. [117], MILLS [140]).

Die Vorteile, die die Anwendung eines Radionuklids zur Bestimmung der Erythrozyten-Lebenszeit bringt, liegen auf der Hand: Es ist die Verwendung patienteneigener Erythrozyten möglich; grössere Genauigkeit bei geringerem Aufwand, denn 1000 Impulse sind leichter (automatisch) zu zählen als 1000 agglutinierte Erythrozyten; die benötigten Indikatormengen können in einem

wesentlich kleineren Volumen appliziert werden, die zur ASHBY-Methode benötigten Antiseren sind teuer und stehen nur in kleinen Mengen zur Verfügung.

Das Radionuklid (bzw. seine chemische Verbindung), das zur Markierung der Erythrozyten dient, muss bei einer Lebenszeit-Bestimmung folgende Bedingungen erfüllen:

1. Es darf die Lebenszeit der markierten Erythrozyten nicht verändern.
2. Seine Halbwertszeit soll nicht kleiner sein als die Beobachtungszeit (üblicherweise, bis etwa die Hälfte der markierten Erythrozyten verschwunden ist).
3. Es soll den Erythrozyten erst nach seiner Zerstörung verlassen.
4. Bei intravasaler Hämolyse muss der Indikator möglichst rasch aus der Blutbahn eliminiert werden.
5. Das Radionuklid darf nach seiner Freisetzung nicht wieder in neugebildete Erythrozyten eingebaut werden.

(6. Es muss eine γ–Strahlung emittieren, um Oberflächenmessungen zu ermöglichen).

Als weitere Forderung wird zwar noch genannt, dass der Indikator nach Zerstörung der Erythrozyten aus dem Körper ausgeschieden wir. Das hätte den Vorteil, dass man ohne Blutentnahme allein durch Messung der Gesamtkörper-Aktivität die Vita-Kurve ermitteln könnte. Aber es hätte den Nachteil, dass man nicht mittels Oberflächenmessung die Bedeutung einzelner Organe für den Abbau der Erythrozyten determinieren könnte. Das ermöglicht erst ein Radionuklid, das am Ort des Hämoglobin-Abbaus eine gewisse Verweilzeit besitzt.

Zu den ersten Lebenszeit-Bestimmungen mit Nukliden wurden ^{55}Fe, ^{59}Fe, ^{15}N und ^{14}C benutzt (GIBSON et al. [68], LONDON et al. [134], LOUTIT [135], PIHA [152], SHEMIN and RITTENBERG [174],). Diese Nuklide haben vor allem den Nachteil, dass sie nach der Zerstörung des Hämoglobin-Moleküls wieder in neu gebildete Erythrozyten eingebaut werden. Eine Lebenszeit kann daher nur gemessen werden, wenn die Einbaurate pathologisch verringert ist. Man erhält dann eine deutliche Senke im Plateau der Indikator-Konzentration in den Erythrozyten, wenn das Gros der nach einmaliger Gabe des Nuklids gleichzeitig markierten Erythrozyten das Ende ihrer Lebenszeit errecht hat (BERLIN et al. [12], POLLYCOVE et al. [153, 155]). Im Abschnitt « Messmethodik, Oberflächenmessung » (Teil III) wird mit Abb. 20 eine eigene Beobachtung dieser Art demonstriert.

Eine weitere Methode geben BORUN et al. an [22]. Ausgehend von der Tatsache, dass das spezifische Gewicht der Erythrozyten mit dem Alter zunimmt, bestimmten sie nach Gabe von ^{59}Fe die Aktivität am Boden, in der Mitte und an de Oberfläche der zentrifugierten Erythrozyten. Zunächst nimmt die Aktivität von oben nach unten ab, erreicht dann einen gleichen Wert und schliesslich ist die Verteilung umgekehrt. Am Ende der Erythrozyten-Lebenszeit wird das freigewordene ^{59}Fe wieder in junge Erythrozyten eingebaut, wodurch man eine zweite scharfe Umkehr des Aktivitätsverhältnisses Boden-Oberfläche erhält.

Diese Methoden sind entweder nur in Sonderfällen beim Menschen

anwendbar, erfordern meist eine Beobachtung über die gesamte Lebenszeit der Erythrozyten (im Mittel 120 Tage) oder bereiten einen grossen messtechnischen Aufwand (z.B. Massenspektrometer bei ^{15}N!), sodass sie für eine Routineanwendung ausscheiden

ERYTHROZYTEN – LEBENSZEIT – BESTIMMUNG MIT ^{51}CR-ERYTHROZYTEN.

Die Markierung der Erythrozyten mit ^{51}Cr erfüllt die geforderten Voraussetzungen am besten. Seine Halbwertszeit beträgt 27,8 Tage ($T_{1/2}$ der ^{51}Cr-Ery-Vita 28-34 Tage). Es verändert in den zur Markierung üblichen Konzentrationen die Lebenszeit der Erythrozyten nicht und wird nicht reutilisiert, sondern nach geraumer Verweilzeit am Ort des Hämoglobin-Abbaues im Urin ausgeschieden. Ungebundenes CrO_4^{2-} wird ebenso wie durch Hämolyse freigewordenes ^{51}Cr-Hb rasch aus der Blutbahn entfernt (GRAY and STERLING [78,79], JANDL et al. [118]).

Die ^{51}Cr-Erythrozyten zeigen allerdings auch einen Nachteil. Die Kurve, die sich aus ihrem Verschwinden ergibt, ist nicht linear wie die der ASHBY-Kurve, sondern ihr Verlauf ist anfangs steiler und schliesslich wieder flacher, um beim Schnittpunkt mit der Zeitachse wieder auf die ASHBY-Kurve zu treffen (EADIE and BROWN [42], EBAUGH et al. [45], SUTHERLAND et al. [188]).

EADIE und BROWN haben gezeigt, dass sich der Verlauf der Kurve durch die Funktion (5) beschreiben lässt, was SUTHERLAND et al. bestätigen [190].

$$N_t = N_0\left(1 - \frac{t}{T}\right)e^{-kt} \tag{5}$$

N_t = Impulse zur Zeit t
N_0 = Impulse am Beginn der Untersuchung
T = mittl. Lebenszeit der Erythrozyten
k = Konstante

Es haben sich zwei Meinungen über die Ursache der Konstanten k gebildet. Die eine legt eine gleichmässige Elution des ^{51}Cr aus den Erythrozyten zu Grunde, die zweite nimmt an, dass die Erythrozyten proportional zu ihrem Alter mehr Chrom aufnehmen. Keine der beiden Hypothesen ist bisher experimentell bestätigt oder widerlegt worden. SMITH and KRIVIT [176] fanden

in vitro nur eine Elution von 0,2% d, während für k in vivo 0,9% d beobachtet wurde (EADIE and BROWN [42]).

Ergebnisse eigener Untersuchungen an durch Zentrifugieren gewonnenen Erythrozyten verschiedenen Alters sprechen für eine Altersunabhängigkeit des Chromeinbaus.

Ausser der mittleren Lebenszeit der Erythrozyten interessiert, ob sie durch einen von ihrem Alter unabhängigen zufälligen Abbaumechanismus oder erst nach Erreichen ihrer physiologischen Lebensspanne abgebaut werden, und, ob eine intravasale Hämolyse oder die Phagozytose der Erythrozyten im RES erfolgt.

Die Vita-Bestimmung wird meist an eine Blutvolumen-Bestimmung angeschlossen. In diesem Fall verwendet man 60-100 µC ^{51}Cr zur Markierung der Erythrozyten. Denn nach 3 Wochen ist nicht nur die Menge der markierten Erythrozyten auf die Hälfte abgefallen, sondern auch beinahe die Hälfte des ^{51}Cr durch den physikalischen Zerfall verloren gegangen. Dass die mit der Ionenaustauscher-Schnellmethode markierten Erythrozyten sich besonders gut zur Vita-Bestimmung eignen, wurde schon erwähnt. Wegen des Anteils an markierten Plasmaproteinen wird dabei die Vitaberechnung auf den 24-Stunden-Wert bezogen.

Wir die Vitabestimmung allein durchgeführt, kann man auf die Waschung der Erythrozyten nach der Inkubation verzichten, da 24 Stunden nach der Injektion das ungebundene $^{51}CrO_4^{2-}$ aus dem Plasma eliminiert ist (JANDL et al. [118]). Die Vita-Bestimmung wird dann ebenfalls auf den 24-Stunden-Wert bezogen.

Von der in-vivo-Markierung zur ausschliesslichen Vita-Bestimmung (EBAUGH et al. [44-46], SUTHERLAND and MCCALL [187], WOLF und WITTE [206]) ist man wieder abgekommen, denn nur 10-12% des injizierten $Na_2{}^{51}CrO_4$ wird von den Erythrozyten gebunden. Man muss also die 5-6-fache Dosis injizieren und mutet dem Patienten dadurch eine unnötige Strahlenbelastung zu. Ausserdem wird durch die Verschwendung von Radionukliden die Untersuchung wesentlich verteuert.

Eine Verkürzung der Lebenszeit wird als Verkleinerung von T in die Formel (5) eingehen; ein zusätzlicher willkürlicher altersunabhängiger Abbaumechanismus in die Konstante *k* (6).

$$k = k_1 + k_2 \tag{6}$$

k_1 = « Cr-Elution »
k_2 = altersunabhängiger Abbaumechanismus

Wenn man den Verlauf der ganzen Kurve verfolgt, kann man wie EADIE und BROWN gezeigt haben, mit Hilfe der Matrix-Rechnung T und k bestimmen [42]. Dieses Verfahren ist als Routinemethode natürlich unbrauchbar.

Man ist deshalb dazu übergegangen, die Vitawerte der ersten 2-3 Wochen auf halblogarithmischem Papier einzutragen. Der Vitawert gibt in Prozent an, wieviel der zur Zeit t_0 gemessenen Impulse zur Zeit t noch vorhanden sind, wobei Schwankungen des Plasma-Volumens durch Korrektur mit einem Hämatokrit-Faktor eliminiert werden [Gleichung (7)].

$$\text{Vita}[\%] = \frac{\text{Impulse zur Zeit } t\,[\text{I}/'/\text{ml}] \times 100}{\text{Impulse zur Zeit } t_0\,[\text{I}/'/\text{ml}]} \times \frac{\text{Htk } t_0}{\text{Htk } t} \tag{7}$$

Als Bezugspunkt t_0 dient im allgemeinen der Wert, der zur Blutvolumen-Berechnung verwendet wurde. Zeigt sich ein Frühabfall der injizierten Aktivität durch geschädigte Erythrozyten oder von ihnen ungebundenes Chrom, so bezieht man die Vitaberechnung auf den 24-Stunden-Wert. Ist bei dekompensierten Blutbildungs- und Blutabbau-Bilanzen eine Veränderung des Hämatokrits die Folge einer Änderung des Erythrozytenvolumens, wird auf die Anwendung des Hämatokrit-Korrekturfaktors in Gleichung (7) natürlich verzichtet.

Mittels einer durch die Vitawerte gelegten Geraden wird die Zeit bestimmt, in der die Vita auf die 50% abgefallen ist. Diese Grösse bezeichnet man als $T_{1/2}$ der ^{51}Cr-Ery-Vita. Ihre Normwerte liegen zwischen 28 und 34 Tagen.

Im allgemeinen begnügt man sich mit der Feststellung dieser $T_{1/2}$ der ^{51}Cr-Ery-Vita und ihrer Abweichung bei verschiedenen Krankheiten von den Normwerten (BOCK et al. [19, 20], BRAGANÇA-GIL et al [26], COOPER et al. [34], CRAWFORD and DE GRUCHY [35], EBAUGH et al [44-46], GEHRMANN et al [65], GIBLETT et al [66], HEDLUND [97], JOSKE et al., [120], KEIDERLING et al. [123, 125], MCCOMBS and LÁWRENCE [137], MOLLISON and VEALL [142], READ et al. [160,161], SCHMIDT et al [167. 168], STRUMIA et al. [184], SUTHERLAND et al. [187-189], WEINSTEIN et al. [202, 203], WOLF und WITTE [205]).

UMRECHNUNG DER ^{51}CR-ERY-VITA IN MITTLERE ERYTHROZYTEN – LEBENSZEIT.

Wie noch im Abschnitt « Erythrokinetics » gezeigt werden wird, ist es von Interesse, die ^{51}Cr-Ery-Vita umzurechnen in die mittlere Lebenszeit der Erythrozyten. Mittels der Formel (5) wurde zunächst für einige Punkte die ^{51}Cr-Ery-Vita umgerechnet. Diese Werte gestatten es, eine Kurve zu zeichnen, aus der sich die übrigen Werte leicht ablesen lassen (s. Abb. 3).

Diese Werte gelten nur für k = 0 0,009 (Normwert für die sog. Cr-Elution). Angenommen, die Cr-Elution wäre erhöht oder es gäbe einen zusätzlichen altersunabhängigen Abbaumechanismus, dann wird mit dieser Umrechnung die mittl. Lebenszeit zu klein kalkuliert. Für grobe Schätzungen in pathologischen Fällen wurde daher eine lineare Korrelation zwischen der ^{51}Cr-Ery-Vita und der mittl. Lebenszeit angenommen und mit dem Faktor 3,24 aus der Vita die Lebenszeit geschätzt [Formel (8)].

$$\text{mittl. Lebenszeit} = {}^{51}\text{Cr-Ery-Vita} \times 3{,}24 \qquad (8)$$

Die Umrechnung, die DI PIETRANTONJ und TIZIANELLO angeben, geht von der Formel (9) aus [151]. Diese Gleichung enthält die Annahme, dass die Vita-Kurve eine reine e-Funktion ist. Die Korrektur der ^{51}Cr-Ery-Vita auf

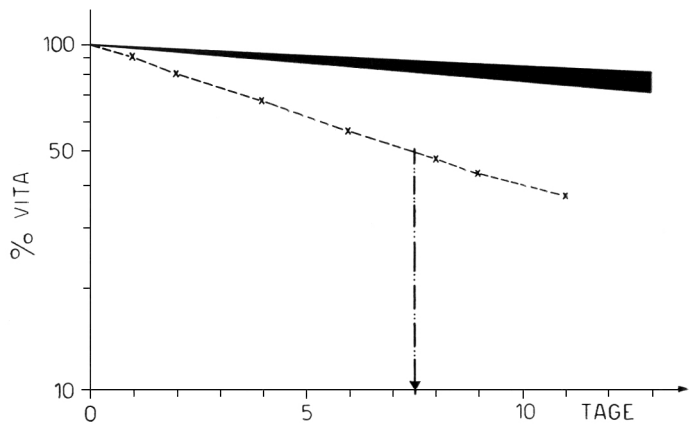

ABB. 2

Beispiel zu Ermittlung der ^{51}Cr-Ery-Vita.
Patient: He. Diagnose: Fam. hämolytischer Ikterus.
$T_{1/2}$ der ^{51}Cr-Ery-Vita: 7,5 Tage. Normbereich fett.

Elution nach einigen Autoren [Gleichung (10)] (DONOHUE et al. [39], HUGHES JONES and MOLLISON [115]) wäre nur richtig, wenn eine Verkürzung

der Vita nur auf einem zufälligen Abbaumechanismus zurückzuführen ist, der die Erythrozyten unabhängig von ihrem Alter vernichtet.

$$N_t = N_0 e^{-(k_1+k_2)t} \tag{9}$$

$$\frac{1}{T_{1/2}\ \text{corr.}} = \frac{1}{T_{1/2}\ \text{Vita}} - \frac{1}{T_{1/2}\ \text{« Elution »}} \tag{10}$$

Beide Annahmen sind aber unzulässig, denn die ASHBY-Methode zeigt, dass die Erythrozyten eine begrenzte Lebenszeit haben und dass diese Lebenszeit krankhaft verkleinert sein kann.

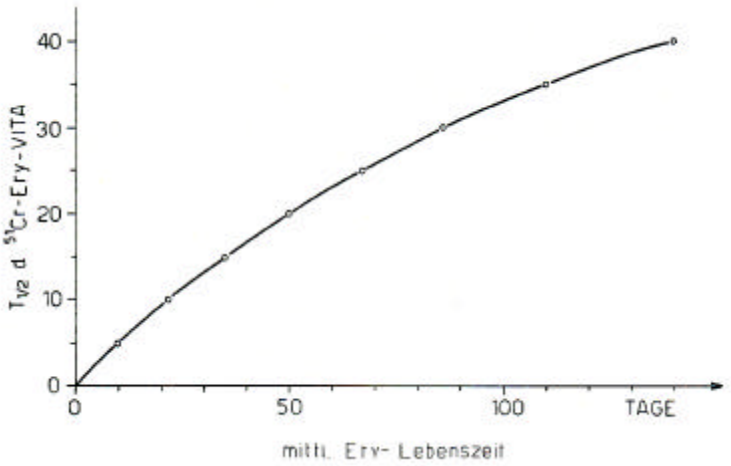

ABB. 3

Kurve zur Ermittlung der mittleren Erythrozyten-Lebenszeit
aus der Halbwertszeit der Vita.

Gelingt es, mit Hilfe des Eisen-Stoffwechsels die mittlere Lebenszeit zu bestimmen, dann lässt sich aus einem Vergleich zwischen diesem Wert und dem aus Abb. 3 ermittelten Ergebnis ein Anhaltspunkt für die Grösse eines zufälligen Abbaumechanismus abschätzen. Je grösser sein Einfluss auf die Verkürzung der ^{51}Cr-Ery-Vita ist, umso grösser wird die Differenz zwischen diesen beiden Werten sein.

Solange die Ursache der Konstanten k nicht geklärt ist, werden allerdings alle Umrechnungsversuche nur semiquantitative Schätzungen bleiben.

TEIL II

Eisenstoffwechsel und Ferrokinetics

EINFÜHRUNG IN DEN EISENSTOFFWECHSEL.

Eisen ist ein Baustein des Hämoglobins; daher ist der Eisenstoffwechsel mit Blutbildung und –abbau eng verbunden. Eine Untersuchung des Eisenstoffwechsels kann somit einige Einblicke in pathologische Veränderungen des hämatologischen Status gewähren.

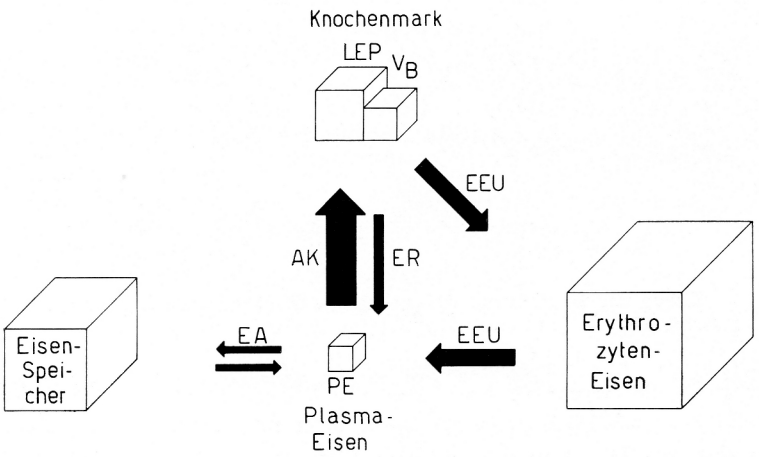

ABB. 4

Schema des Eisenstoffwechsels. Die Grössenverhältnisse der Würfel und der Pfeile entsprechen ungefähr den natürlichen Beziehungen. Normwerte nach POLLYCOVE [153, 156]. Erläuterung im Text.

Die Abb. 4 zeigt eine schematische Übersicht über die wichtigsten Verteilungsräume des Eisens und ihre Wechselbeziehungen. Das Plasmaeisen PE (Norm: 40 µg/kg) wird sehr schnell umgesetzt (ELMINGER et al. [50],

GRANICK [72], HAHN [86], HEILMEYER und WEISBECKER [99], KATZ [121, 122]). Der Plasmaeisen-Umsatz PEU ist normalerweise identisch mit dem Abstrom des Eisens ins Knochenmark AK (Norm für PEU: 500 µg/kg/d; für AK 400-500 µg/kg/d). Der Abstrom in Eisenspeicher und das RES EA erreicht normalerweise höchstens 20 % des PEU (Norm für EA: 0-100 µg/kg/d). Die Eisenaufnahme aus der Nahrung und der Verlust im Darm sowie der Austausch mit eisenhaltigen Fermenten (z.B. den Cytochromen) kann für diese Betrachtung vernachlässigt werden (GUBLER [84], HAHN [87], MOORE and DUBACH [143], SCHMIDT [166], VANOTTI [193]). Das Plasmaeisen setzt sich mit dem labilen Eisen-Pool des roten Knochenmarkes LP sehr schnell ins Gleichgewicht (GREENBERG and WINTROBE [80], POLLYCOVE et al. [153, 154, 156, 157], SHARNEY et al. [173]). Aus dem labilen Eisen-Pool des Knochenmarks wandert ein Teil des Eisens über die Erythroblasten (*)VB als Bestandteil des Hämoglobins in die Erythrozyten. Nach Abbau der Erythrozyten erscheint das Eisen wieder im Plasma.

Im Plasma liegt das Eisen als Fe^{+++}-Ion vor, gebunden an das Transferrin, ein $ß_1$-Globulin (KOECHLIN [126], LAURELL [128, 129, 131, 132], SCHADE and CAROLINE [165], SURGERNOR et al. [186]). Die morphologische Repräsentation des labilen Eisen-Pools dürften die Zellmembranen der Erythroblasten sein, an denen das Eisen durch spezifische Mechanismen festgehalten und teils mit dem Transferrin-gebundenen Eisen ausgetauscht, teils zur Hb-Synthese an das Zellinnere transportiert wird [JANDL et al. [119], POLLYCOVE and MORTIMER [157], SONDHAUS and THEORELL [173], Walsh et al. [198]). Im RES und den Eisenspeichern liegt es teils als Ferritin, teils als Hämosiderin vor (GRANICK [73, 74], HAHN [91], HANSEN and WEINFELD [94], HASKINS et al. [96], HEILMEYER [98], MAZUR et al. [136], POLLYCOVE and MORTIMER [157], SHODEN et al. [175]). Die Grösse der mobilisierbaren Eisenspeicher wird auf 1000-1500 mg geschätzt. Das Ferritin dürfte die leicht austauschbare und daher in pathologischen Fällen mit der erythrokinetischen Untersuchung erfassbare Speicherform sein, während das Hämosiderin verhältnismässig immobil ist. Das von BESSIS et al. [16, 17], in den Retikulumzellen des Knochenmarks beobachtete Ferritin dürfte wohl eher dem Speichereisen als dem labilen Eisen-Pool angehören (POLLYCOVE and MORTIMER [157]9.

Um sich einen Einblick in die Dynamik des Eisenstoffwechsels zu verschaffen, setzt man als Indikator ^{59}Fe dem Plasma zu und verfolgt die Aktivität im Plasma und in den Erythrozyten sowie durch Oberflächenmessungen über dem Knochenmark, der Leber und der Milz in den verschiedenen Verteilungsräumen. Diese Untersuchung ist unter dem Namen « Ferrokinetics » bekannt geworden (HUFF et al. [110]).

FERROKINETICS.

Die Markierung des Plasmaeisens ist einfach. Nach kurzer Inkubation des Plasmas mit $^{59}Fe^{+++}$-Ionen (als Citrat oder

(*) « Erythroblasten » ist hier nicht morphologisch zu verstehen, sondern funktionell, d.h. als Gesamtheit aller Hb-synthetisierenden roten Vorstufen.

Chlorid) bei Zimmertemperatur findet man das ^{59}Fe an das Transferrin gebunden.

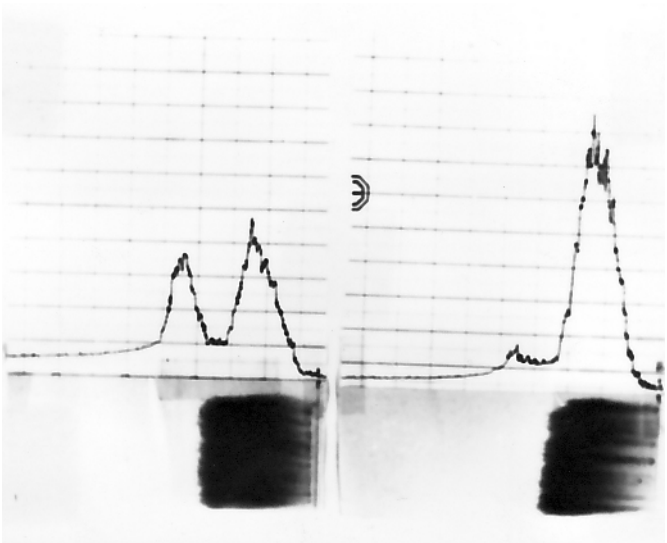

ABB. 5

Elektrophorese ^{59}Fe-markierten Plasmas und Messung der Aktivitätsverteilung mittels eines Radiochromatographen FH 452 (Friesecke & Hoepfner). Methodik nach EGGSTEIN und HUNDESHAGEN [48], NEALE [145]. Aufgetragen wurden ca. 7 µl Plasma; 1,5 Std. bei 90 Volt, Michaelispuffer pH 86. Aktivitätsmessung mit Endglockenzählrohr (1,1 mg/cm2 Massenbelegung), Spaltbreite der Abschirmung 2 mm. Vorschubgeschwindigkeit 120 mm/h, Färbung: Amidoschwarz 10 B.

Li: Patient: Mü. Diagnose: Transfusionshämosiderose bei nephrogener Anämie (Phenacetin). Latente Eisenbindungskapazität von 14 ml Plasma: 4,5 µg. Eisenzusatz bei Markierung; 11 µg.

Re.: Patient: Hk. als Normalfall zum Vergleich. Diagnose: Maligne Verlaufsform der essentiellen Hypertonie. Latente Eisenbindungskapazität von 11 ml Plasma: 18,7 µg. Eisenzusatz bei Markierung: 7,2 µg.

In welcher Form das ungebundene Eisen im verwendeten Veronal-Puffer als Anion wandert, konnte nicht festgestellt werden.

Das ^{59}Fe soll eine möglichst hohe spezifische Aktivität besitzen, damit der « Eingriff » in das Plasmaeisen niedrig bleibt. Wir verwenden ^{59}Fe (III)-Citrat in steriler isotonischer Lösung mit pH 7 oder $^{59}FeCl_3$ in 0,1 n-HCl mit einer spezifischen Aktivität von ca. 2-7,7 mC/mg. Da zur Plasmaeisen-Markierung

etwa 20 µC verwendet werden, liegt die zugesetzte Eisenmenge mit 5-6 µg bei 1 ‰ des Plasmaeisens und innerhalb der latenten Eisenbindungskapazität von 5-10 ml Plasma. Selbst wenn die latente Eisenbindungskapazität stark verringert oder gleich Null ist, wie bei einer Hämochromatose, wird das Radioeisen durch Austausch mit dem Transferrin-gebundenen Eisen vom Transporteiweiss aufgenommen. Der Rest ungebundenen Eisens wird nach Injektion sehr schnell gebunden (s. Abb. 5). Die direkte intravenöse Injektion des Radioeisens (LOEFFLER [133]) hat keine grosse Verbreitung gefunden.

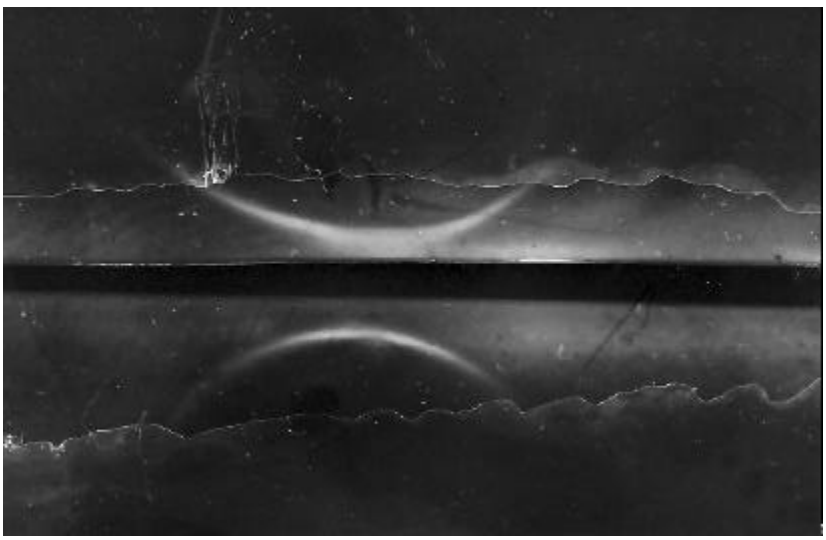

ABB. 6

Immunoelektrophorese (*) und Autoradiographie von ^{59}Fe-markiertem Plasma. Antiserum: Anti-Transferrin. Stripping-Film-Verfahren. Kodak Scientific Plates AR 10. Expositionszeit: 14 Tage. Entwickler: Kodak D 19. Abbildungsmassstab: 1:2,3 Methodik: Immunoelektrophorese nach SCHWICK [171], Autoradiographie nach GRAUL und HUNDESHAGEN [76a, 76b].

Wenn nur mit dem Nuklid ^{59}Fe gearbeitet werden soll, ergibt sich folgender Arbeitsgang. In eine Spritze werden 8-16 ml Blut aus der Vene des Patienten zu 2-4 ml Zitrat (3,8 g %) und 20 µC

(*) Für die Ausführung der Immunelektrophorese sind wir Herrn Dr. Aly (Medizinische Universitätsklinik Marburg, Direktor: Prof. Dr. H. E. Bock) zu Dank verpflichtet.

^{59}Fe aufgezogen. Nach kurzer Inkubation (ca. 10 min) wird eine genau abgemessene Menge reinjiziert und etwas 0,5 ml zurückbehalten, wovon eine 1:100 Verdünnung angesetzt wird. 1 ml dieser Verdünnung dient als Standard.

Durch mehrere Blutentnahmen wird die Plasma-Aktivität der ersten Stunde(n) nach Injektion und die Impulsrate in den Erythrozyten in den folgenden Wochen erfasst.

MATHEMATISCHE GRUNDLAGEN DER EISENSTOFFWECHSEL-BERECHNUNG.

Zunächst sollen die mathematischen Grundlagen erläutert werden, die zum Verständnis und zur Verrechnung der mit Hilfe der Ferrokinetics gewonnen Aktivitäts-Verläufe notwendig sind.

Das Gesamt-Plasmaeisen PE ist aus dem Serumeisen-Spiegel und Plasma-Volumen zu ermitteln [Gleichung (11)].

$$\mathrm{PE\,[mg]} = \frac{\text{Serum - Eisen}\,[\mu g/100ml] \times \mathrm{PV\,[ml]}}{100.000\,[\mu g/mg]} \tag{11}$$

Zur Berechnung des Plasmaeisen-Umsatzes PEU kann man als einfaches Modell ein Volumen V annehmen, das von einem Fluss *F* durchströmt wird. Bei blosser Betrachtung der Konzentration in V kann über die Zu- und Abflussmenge pro Zeit F nichts ausgesagt werden. Erst ein Zusatz eines Indikators (in diesem Fall ^{59}Fe) und das Verfolgen seiner Konzentrationsänderung über die Zeit gibt uns hier Aufschluss. Die Indikator-Konzentration in V gehorcht der Formel (12), da pro Zeiteinheit immer die gleiche Fraktion des Volumens durch den Fluss ausgetauscht wird und die jeweilige Menge des Tracers seiner Konzentration proportional ist (VETTER and VEALL [196]).

$$C_t = C_0 e^{-\frac{F}{V}t} \tag{12}$$

$\frac{F}{V} = \lambda$ = hier « Plasma-Eisen-Verschwindensrate » (eigentlich eine Raten konstante).

Durch Logarithmieren der Gleichung (12) ergibt sich (13).

$$\ln C_t - \ln C_0 = -lt \tag{13}$$

$$lt = \ln C_0 - C_t = \ln \frac{C_0}{C_t} \tag{14}$$

Laut Definition der Halbwertszeit gilt die Gleichung (15).

$$t = T_{1/2} \quad \therefore \quad \frac{C_0}{C_t} = 2 \tag{15}$$

$$\ln C_0 - \ln C_t = \ln 2 = 0{,}693 \tag{16}$$

Durch Einsetzen von (16) in (14) ergibt sich (17).

$$l = \frac{0{,}693}{T_{1/2}} \tag{17}$$

Der Plasmaeisen-Umsatz PEU ist also nach Gleichung (18) zu errechnen.

$$\text{PEU [mg/d]} = \text{PE [mg]} \times \lambda\,[1/\text{h}] \times 24\,[\text{h/d}] \tag{18}$$

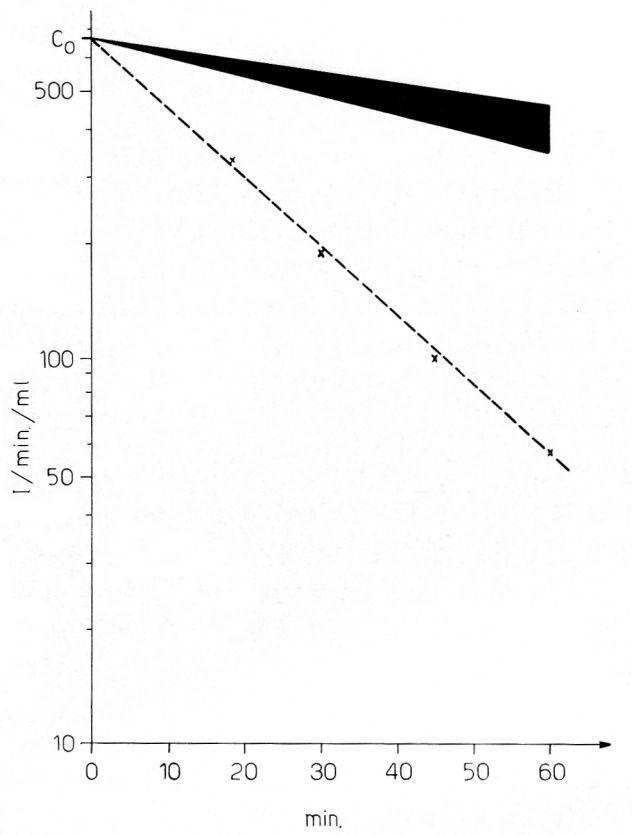

ABB. 7

Ermittlung der « Plasmaeisen-Verschwindensrate ».
Patient: He. Diagnose: Fam. hämolytischer Ikterus.
$T_{1/2}$ = 17 min. = 0,28 h. λ = 2,48/h. Normbereich fett

$T_{1/2}$ ermittelt man leicht, indem man die Messpunkte gegen die Zeit halblogarithmisch aufträgt. An der durch die Punkte gelegten Gerade lässt sich $T_{1/2}$ direkt ablesen. Ihr Normalbereich liegt zwischen 1,2 und 1,6 Stunden (s. Abb. 7).

Durch Extrapolation zum Zeitpunkt t_0 lässt sich die Ausgangskonzentration C_0 ablesen, die durch Verdünnung des Indikators in V ohne Abwanderung entstanden wäre. Plasma-Volumen-Berechnungen mit Hilfe dieses Wertes ergeben aber zu hohe Ergebnisse. Denn die Extrapolation geht von der Voraussetzung aus, dass von Anfang an eine gleichmässige Durchmischung vorgelegen hat. Diese Annahme ist aber für die ersten Minuten nach Injektion unzutreffend. Bei einer Umsatzrate, die so gross wie die des Plama-Eisens ist, kann man diesen Zeitraum nicht vernachlässigen, und Plasma-Volumen-Bestimmungen auf dieser Basis sind daher unkorrekt.

Sehr viele Untersuchungen des Eisenstoffwechsels beschränken sich auf die Angabe der « Plasma-Eisen-Verschwindensrate » und des Plasma-Eisen-Umsatzes (BUSH et al. [28, 29], FINCH [56], KEIDERLING et al. [125], KORMAN [127], LOEFFLER et al. [133], MCCOMBS and LAWRENCE [137]). Als weitere Grösse wird noch die Utilisation bestimmt, d. h. der Prozentsatz der gesamt-injizierten Impulse, der sich zur Messzeit in den Erythrozyten wiederfindet [Gleichung (19)].

$$U_t = \frac{I_B \times 100}{Htk} \times \frac{EV}{I_{ges}} \times 100 [\%] \qquad (19)$$

U_t = Utilisation zur Zeit t in Prozenten
I_B = Impulse in 1 ml Vollblut
I_{ges} = Gesamt-injizierte Impulse.

Die Abb. 20 (Teil III) zeigt ein Beispiel für eine Utilisationskurve und ihren Normbereich. HUFF et al. berechnen aus diesen Grössen den Erythrozyteneisen-Umsatz [112]. Sie gehen dabei von einem vereinfachten Modell des Eisenstoffwechsels aus (s. Abb. 8).

Der Erythrozyteneisen-Umsatz errechnet sich dann nach Formal (20).

$$EEU = PEU \times U_{max} \qquad (20)$$

EEU = Erythrozyteneisen-Umsatz
U_{max} = maximal erreichte Utilisation

Wegen ihrer Einfachheit ist diese Berechnungsmethode für den Erythrozyteneisen-Umsatz sehr verbreitet (BOTHWELL et al. [23, 24],

ELMINGER et al. [49], FINCH et al. [57, 58, 59], GIBLETT et al. [66]. HEIDLUND [97], HUFF et al. [110, 113, 114], SCHMIDT [167], WASSERMANN et al. [200], WEINSTEIN and BEUTLER [202]).

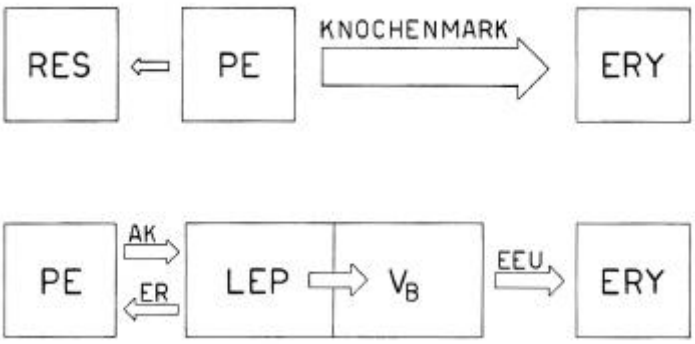

ABB. 8

Modellgrundlage zur Berechnung des Eisenstoffwechsels:
oben: nach HUFF et al. (112),
unten: nach POLLYCOVE and MORTIMER [153, 157].

Aber HUFF selbst bemerkte schon, dass dieses Modell eine unzulässige Vereinfachung darstellt. Verfolgt man die Plasmaeisen-Aktivität über längere Zeit, so zeigt sich nach ca. 6 Stunden eine Verlangsamung des Abfalls. Die Halbwertszeit des zweiten Abfalls beträgt ca. 2,7 Tage (Ratenkonstante r_3 = 0,345/d) (s. Abb. 9).

Pollycove hat daraus geschlossen, dass das Plasmaeisen sich sehr rasch mit einem austauschbaren Eisen-Pool des Knochenmarks ins Gleichgewicht setzt. Aus diesem labilen Eisen-Pool LEP wandert das Eisen dann über die Erythroblasten und erscheint schliesslich im peripheren Blut (s. Abb. 8).

Die Änderung der spezifischen Aktivität des Plasmaeisens wird also von zwei Faktoren bestimmt, der Vermischung mit dem labilen Eisen-Pool und dem Erythrozyteneisen-Umsatz. Sie lässt sich durch die Formel (219) beschreiben, in der die Konstante r_1 die frühere Konstante λ ersetzt [Gleichung (22)]

$$C_t = C_0\, e^{-r_1 t} + C_A\, e^{-r_3 t} \qquad (21)$$

$$r_1\,[1/\mathrm{d}] = \lambda\,[1/\mathrm{d}] \times 24\,[\mathrm{h}/\mathrm{d}] \qquad (22)$$

Durch Analyse der Kurve, also de Bestimmung der beiden Konstanten r_1 und r_3 sowie C_0 und C_A lassen sich die Umsatzgrössen Plasmaeisenumsatz, Eisenabstrom ins Knochenmark, Eisenrückstrom vom Knochenmark, Erythrozyteneisenumsatz sowie die Grösse des labilen Eisen-Pools berechnen.

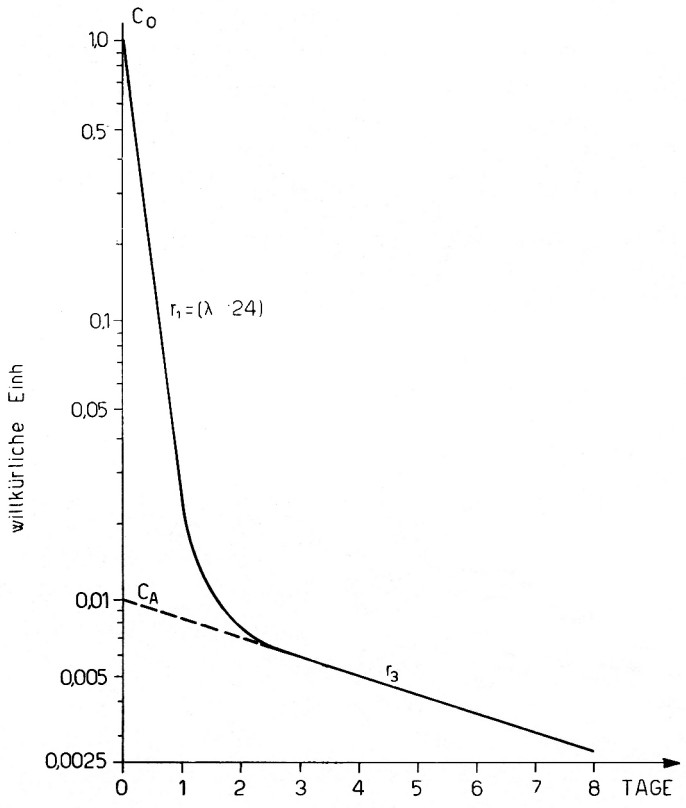

ABB. 9

Schematische Darstellung der « Plasmaeisen-Verschwindens raten » r_1 und r_3. (Nicht massstabsgetreu).

Aus diesem Ergebnis folgt zweierlei:

1. Die weit verbreitete Berechnung nach HUFF, Gleichung (20), ergibt einen Erythrozyteneisen-Umsatz, der im Normalfall etwa 40-50 % zu hoch ist.

2. In pathologischen Fällen wird zwar der Plasmaeisen-Umsatz vom Erythrozyteneisen-Umsatz abhängig sein, aber sicher

keinen quantitativen Schluss auf die Erythropoese erlauben. Wie noch gezeigt werden wird, bestimmt dann ein pathologisch veränderter Eisenrückstrom ER und ein Eisenabstrom in die Eisenspeicher oder das RES EA den Plasmaeisen-Umsatz wesentlich mit.

Ausserdem ist zu bemerken, dass die Ermittlung des Plasmaeisen-Umsatzes immer nur ein Augenblicksbild des Eisenstoffwechsels vermittelt, der nur bedingte Schlüsse auf ganztägige oder sich über Wochen erstreckende Vorgänge erlaubt. Nicht nur der Plasmaeisenspiegel unterliegt tageszeitlichen Schwankungen (ca. 30 µg) (HAMILTON et al. [93], HEMMELER [100], HOYER [109]. LAURELL [130], sondern auch der Plasmaeisen-Umsatz (BOTHWELL and MALLETT [25]).

BESTIMMUNG DER SPEZIFISCHEN AKTIVITÄT UND DER RATENKONSTANTEN r_3 MIT DESFERRIOXAMIN (*).

Die Impulsraten betragen nach Auftreten der Ratenkonstanten r_3 nur noch 10^{-2} bis 10^{-3} der Impulsrate nach Vermischung des injizierten Indikators im Plasma. POLLYCOVE umging die messtechnischen Schwierigkeiten durch Gabe grosser Dosen von ^{59}Fe (bis 45 µC) und das Messen von 5-10 ml Plasma. Um eine befriedigende Genauigkeit zu erzielen, muss man verhältnismässig viele Proben messen, ungefähr täglich während der ersten Woche. Derart häufige und umfangreiche Blutentnahmen sind für eine Routine-Methode untragbar, zumal bei der Entnahme wie beim Zentrifugieren sehr sorgfältig und streng hämolysefrei gearbeitet werden muss, denn die ^{59}Fe-Impulsrate in den Erythrozyten liegt schon wenige Tage nach der ^{59}Fe-Injektion mehrere Zehnerpotenzen über der des Plasmas.

Wir umgingen diese technische Schwierigkeit folgendermassen: Normalerweise scheidet der Mensch fast kein Eisen aus. Die Ausscheidung, ungefähr 1 mg/d, erfolgt über die Galle und durch abgeschilferte Darmepithelien im Stuhl. Nur wenige µg werden

(*) Das Desferrioxamin wurde von der CIBA AG. freundlicherweise der Medizinischen Universitätsklinik Marburg (Direktor: Prof. Dr. H. E. Bock) zur klinischen Erprobung zur Verfügung gestellt. Die beschriebenen Untersuchungen wurden gemeinsam mit Herrn Dr. Kaufmann und Herrn Dr. Kreutz durchgeführt.

im Urin ausgeschieden (HAHN et al. [87]. MOORE and DUBACH [143]). Injiziert man einen nierengängigen Komplexbildner, der das Plasmaeisen bindet, kann man die Ausscheidung im Urin erhöhen. Frühere Versuche mit EDTA (Äthylendiamintetraessigsäure) waren nicht sehr erfolgreich (Steiner [181]). In dem Desferrioxamin steht ein geeignetes Mittel für diesen Zweck zur Verfügung. Es genügen schon geringe Dosen, um soviel Eisen im Urin zur Ausscheidung zu bringen, dass man die spezifische Aktivität mit grösserer Genauigkeit messen kann, als dies im Plasma möglich wäre. Da aber die spezifische Aktivität des im Urin ausgeschiedenen Eisens und des Plasmaeisens gleich ist, kann man durch Injektion von Desferrioxamin und Messung des Urins einfach und genau die Ratenkonstante r_3 bestimmen. Durch chemische quantitative Bestimmung der ausgeschiedenen Eisenmenge lässt sich die spezifische Aktivität berechnen und damit der Kurve einen absoluten Bezugspunkt geben. Die Abb. 10 zeigt ein Beispiel für eine derartige Messung.

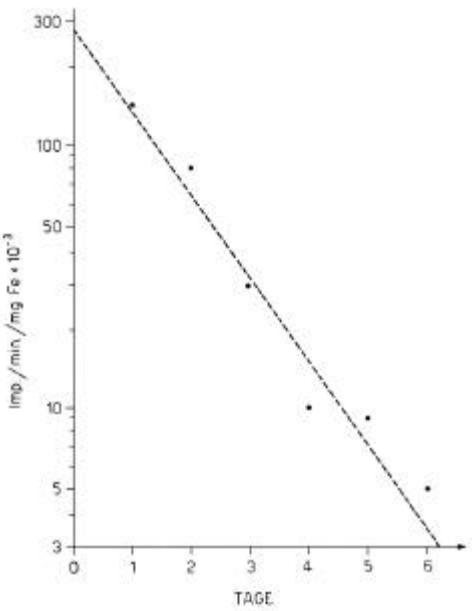

ABB. 10

Verlauf der spezifischen Aktivität im Urin nach einer Dosis von 200 mg/d Desferrioxamin i. v. Patient: Sche. Diagnose: Hämosiderose der Leber (bioptisch bestätigt). Serumeisenspiegel: 59 µg, r_1 = 23,8/d, r_3 = 0,693/d.

Das Desferrioxamin wurde dabei 24-stündlich injiziert und der folgende 24-Stunden-Sammelurin gemessen. Verbesserung der Messmethodik erlaubte die Reduzierung der Dosis auf 50 mg/d.

Weitere Versuche müssen klären, wieweit eine kleinere Dosis

in grösseren Zeitabständen und die Messung kurzfristigerer Urinproben die Messgenauigkeit verbessern kann. Ebenso muss geklärt werden, ob und wieweit die Ausscheidungsgeschwindigkeit des Desferrioxamin das Messergebnis beeinflusst. Nach den bisherigen Erfahrungen kann die spezifische Aktivität des Eisens im Urin de des Plasmas zum Zeitpunkt der Desferrioxamin-Injektion gleichgesetzt werden. Soll die von POLLYCOVE bei endogenen Hämochromatosen beschriebene Ratenkonstante r_2 gemessen werden [153, 157], ist bis zu 24 Stunden nach ^{59}Fe-Injektion die Messung des Plasmas vorzuziehen, da kurze Abstände der Messung nötig sind und die spezifische Aktivität des Plasmaeisens noch genügend gross ist. Das bei den verwendeten Dosen ausgeschiedene Eisen kann im Vergleich zum Plasmaeisenumsatz vernachlässigt werden (ca. 1 %).

DIE UNTERSUCHUNG DER UTILISATIONSKURVE.

FELLINGER et al. geben einen anderen Weg an, die Ratenkonstante r_3 zu bestimmen. Sie betrachten das Erscheinen der mit ^{59}Fe-markierten Erythrozyten als eine Ausscheidung aus dem labilen Eisen-Pool und fordern, dass die Kurve der Utilisation der Funktion (23) gehorcht [54].

$$C_t = C_A\left(1 - e^{-r_3 t}\right) \tag{23}$$

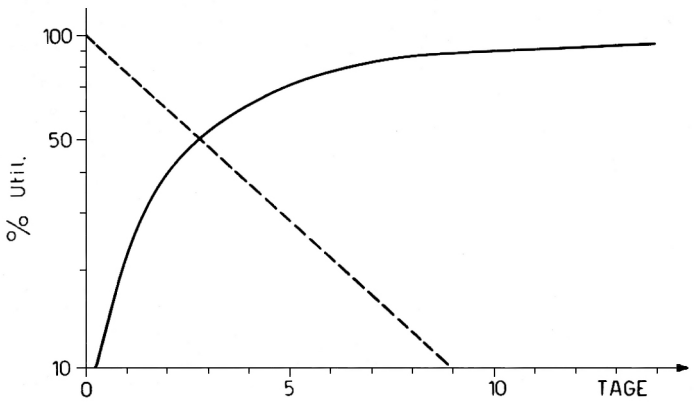

ABB. 11

Ausgezogen: Funktion (23). Gestrichelt: Funktion (24).
C_A = 100 %, r_3 = 0,25/d.

Sie abstrahieren also im Modell Abb. 8 von POLLYCOVE den Eisen-Pool der Erythroblasten V_A. Zeichnet man statt der Funktion (23) ihre Differenz zum Maximum C_A, erhält man die Funktion (24) (s. Abb. 11). Auf

halblogarithmischem Papier kann man die Halbwertszeit direkt ablesen und aus ihr die Ratenkonstante r_3 errechnen.

$$C_t = C_A^{r_3 t} \tag{24}$$

Die spezifische Aktivität im Plasma ist nach erfolgter Durchmischung mit dem labilen Eisen-Pool repräsentativ für die spezifische Aktivität im gesamten Eisen-Pool, da man dann Plasmaeisen und labilen Eisen-Pool als gemeinsames Volumen betrachten kann. Die Indikatormenge *I* im labilen Eisenpool schätzten FELLINGER et al. nach Gleichung (25), die Grösse des labilen Eisen-Pools berechnet sich dann nach Gleichung (26) und der Erythrozyteneisenumsatz aus Gleichung (27).

$$\mathrm{I} = \mathrm{I}_{\mathrm{ges}} \times \mathrm{U}_{\mathrm{max}} - \text{Impulse im EV} \,(= \mathrm{U}_{\mathrm{t}}) \tag{25}$$

$$\mathrm{LEP} = \frac{\mathrm{I}}{\text{spez. Akt. des Plasmas}} \tag{26}$$

$$\mathrm{EEU} = \mathrm{LEP} \times \mathrm{r}_3 \tag{27}$$

Die mit dieser Methode errechneten Werte für den Erythrozyteneisen-Umsatz liegen sogar höher als die nach der Methode von HUFF et al. geschätzten Ergebnisse (VETTER und VEALL [196]).

ENTWICKLUNG DER UTILISATIONSGLEICHUNG.

Betrachtet man die Utilisationskurve näher, dann erkennt man, dass sie keine reine Funktion nach (23) ist, sondern eine Wendepunktskurve, die allerdings in ihrem letzten Abschnitt der Funktion (23) folgt. Das liegt daran, dass das Eisen aus dem labilen Eisen-Pool nicht direkt in die Erythrozyten wandert, sondern den Pool der Erythroblasten « durchströmt ». Dieser Eisenpool der Erythroblasten wird zwar schon von POLLYCOVE erwähnt und in seiner Grösse determiniert (ca. 30 mg), aber die Herkunft dieser Grössenangabe nicht erwähnt [153]. Die mathematische Analyse der spezifischen Aktivität des Plasmaeisens würde auch keine Bestimmung des Erythroblasteneisenpools ermöglichen.

Wir nehmen vereinfachend an, dass es sich um einen einheitlichen Pool mit vollständiger Durchmischung handelt. Die Annahme verschiedener, teils hintereinander, teils parallel geschalteter Verteilungsträume und einer unvollständiger Durchmischung sowie eines Verzögerungsfaktors würde nicht nur die mathematische Formulierung sehr erschweren. Das Fehlen weiterer Informationen über die verschiedenen Pools würde jede Berechnung der einzelnen Grössen unmöglich machen. Es ist auch durchaus vorstellbar, dass der Erscheinungsform des Ery-

throblasteneisen-Pools zum Teil oder vollständig kein Verteilungsraum im geometrischen Sinne zugrunde liegt, sondern dass er durch biochemische Prozesse repräsentiert wird. Für diesen Fall gilt natürlich umsomehr, dass die im folgenden abgeleitete Formel eine erste Näherung darstellt. Aus diesen Gründen sei auch hier auf Versuche verzichtet, nach einer morphologischen Repräsentation des Erythroblasteneisen-Pools zu suchen.

Plasmaeisen und labiler Eisen-Pool können, wie schon gezeigt, als gemeinsamer Pool V_A betrachtet werden, wobei der Pool V_A praktisch dem labilen Eisen-Pool gleichgesetzt werden kann, denn die Plasmaeisenmenge von ca. 3 mg ist gegenüber den ca. 63 mg Eisen im labilen Eisen-Pool klein. Wir wenden zunächst die Formeln für ein offenes Zwei-Kammer-System mit hintereinandergeschalteten Kammern an (VETTER und VEALL [196]). Die Änderung der spezifischen Aktivität C_{A_t} im Pool V_A folgt der Funktion (28). Die Änderung der spezifischen Aktivität C_{B_t} im Pool der Erythroblasten V_B gehorcht der Funktion (30). Die Exponentialkonstante r_3 kann dabei in erster Näherung der Fraktion des durch den Erythrozyteneisenumsatz ausgetauschten Eisens in Pool V_A gleichgesetzt werden [Gleichung (29)], wie das auch bei der Identifizierung der « Plasmaeisenverschwindensrate » λ mit der vom Plasmaeisenumsatz ausgetauschten Fraktion des Plasmaeisen üblich ist. Der Fehler gegenüber der exakten Ableitung beträgt in beiden Fällen ca. 2 %. Untersuchungen einiger Autoren über den Aktivitätsverlauf in den Erythroblasten nach ^{59}Fe-Gabe mit Hilfe semiquantitativer Autoradiographie ergeben Kurven, die sich durch die Funktion (30) beschreiben lassen (AUSTONI [4]), SUIT et al. [185]).

Da die Lebenszeit der Erythrozyten im Verhältnis zur Messzeit sehr gross ist, eine Reutilisation also fortfällt, kommt die Ausscheidung der ^{59}Fe-merkierten Erythrozyten in das periphere Blut aus dem Pool V_B einer Integration von C_{B_t} gleich (31-38) (*).

(*) Für die mathematische Hilfe bei der Ableitung der Utilisationsgleichung sind wir Herrn Dipl.-Phys. Hagemann (Physikalisches Labor der Strahlenklinik der Universität Marburg, Direktor: Prof. Dr. R. du Mesnil de Rochemont) zu Dank verpflichtet.

$$C_{A_t} = C_A e^{-r_3 t} \tag{28}$$

$$r_3 = \frac{EEU}{V_A} \tag{29}$$

$$C_{B_t} = C_A \left(\frac{V_A}{V_A - V_B} \right) \left(e^{-\frac{EEU}{V_A} t} - e^{-\frac{EEU}{V_B} t} \right) \tag{30}$$

$$\int_0^t C_{B_t}\, dt = C_A \left(\frac{V_B}{V_A - V_B} \right) \left[-\frac{V_A}{EEU} e^{-\frac{EEU}{V_A} t} + \frac{V_B}{EEU} e^{-\frac{EEU}{V_B} t} + c \right]_0^t \tag{31}$$

$$\int_0^t C_{B_t}\, dt = \frac{C_A}{EEU} \frac{V_B}{(V_A - V_B)} \left[-V_B\, e^{-\frac{EEU}{V_B} t} + V_A\, e^{-\frac{EEU}{V_A} t} + c \right]_0^t \tag{32}$$

Zur Zeit t = 0 gilt

$$V_B - V_A + c = 0 \tag{33}$$

$$c = V_A - V_B = -(V_B - V_A) \tag{34}$$

$$\int_0^t C_{B_t}\, dt = \frac{C_A}{EEU} \frac{V_B}{(V_A - V_B)} \left[V_A \left(1 - e^{-\frac{EEU}{V_A} t} \right) - V_B \left(1 - e^{-\frac{EEU}{V_B} t} \right) + c \right]_0^t \tag{35}$$

Zur Ermittlung der maximalen Utilisation setzen wir $t \to \infty$.

$$\int_0^t C_{B_t}\, dt = \frac{C_A V_B}{EEU} \tag{36}$$

Laut Definition gilt für die Utilisation *U* zur Zeit *t* Gleichung (37).

$$U_t = \frac{\int_0^t C_{B_t}\, dt}{\int_0^\infty C_{B_t}\, dt} 100[\%] \tag{37}$$

$$U_t = \frac{V_A\left(1 - e^{-\frac{EEU}{V_A}t}\right) - V_B\left(1 - e^{-\frac{EEU}{V_B}t}\right)}{V_A - V_B} 100[\%] \qquad (38)$$

Durch Analyse der Utilisationskurve gemäss dieser Formel (38) lassen sich die beiden Konstanten $\frac{EEU}{V_A} = r_3$ und $\frac{EEU}{V_B} = r_4$ bestimmen. Diese Analyse wird durch die Tatsache erleichtert,

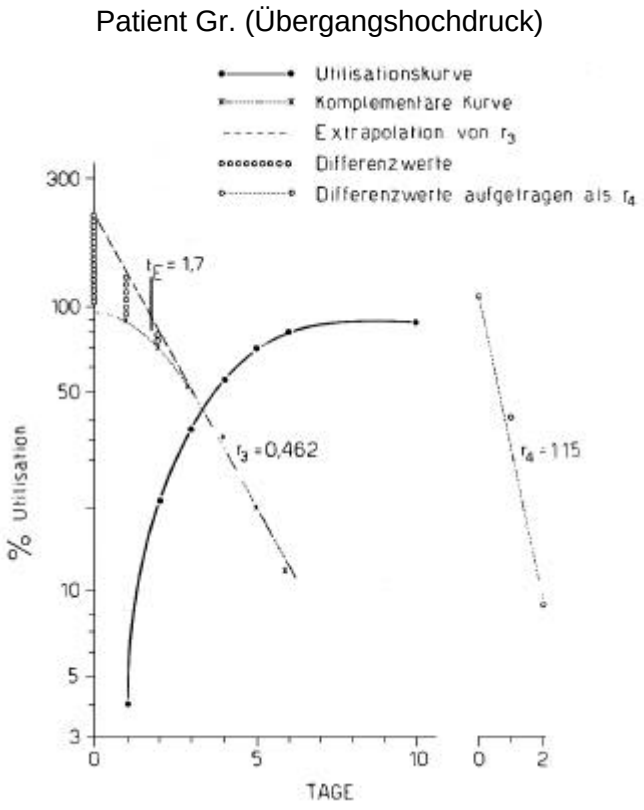

ABB. 12

Beispiel zur Ermittlung der Ratenkonstanten r_3 und r_4.

dass die Utilisationskurve in ihrem Endteil nur noch von der Ratenkonstanten r_3 bestimmt wird. Zunächst folgen wir dem Analysengang von FELLINGER et al. Die erhaltene Gerade wird

verlängert, bis sie das Niveau der maximalen Utilisation schneidet. Der Schnittpunkt aus der Zeitachse wird als mittlere Erythrozyten-Reifungszeit bezeichnet (= t_E) (VETTER und VEALL [196]). Die Differenzen zwischen der wahren Utilisationskurve (komplementär gezeichnet) und der bis zur Zeit t_0 extrapolierten Geraden (mit der die Ratenkonstante r_3 bestimmt wurde) werden ebenfalls halblogarithmisch aufgetragen. An der durch sie gebildeten Geraden kann die Ratenkonstante r_4 abgelesen werden (s. Abb. 12). Bei kleinen Werten für die mittl. Erythrozytenreifungszeit t_E kann diese Analysemethode schwierig bis unmöglich werden. Hier bietet sich ein anderer Weg an. Durch Einsetzen der beiden Koordinaten t_E und U_{max} in die Gleichung (39), die die Gerade beschreibt, mit deren Hilfe die Ratenkonstante r_3 ermittelt wurde, lässt sich leicht die Gleichung (40) ableiten, die die Errechnung der Ratenkonstanten r_4 gestattet. Um das Ausrechnen des Ausdrucks $e^{-r_3 t_E}$ zu erleichtern, kann man ihn durch den Ausdruck $\frac{U_{max}}{S}$ ersetzen, wobei S der Schnittpunkt der Geraden (39) mit der Zeitachse t_0 bedeutet [Gleichung (41)].

$$U_t = \frac{V_A \, e^{-r_3 t}}{V_A - V_B} \times 100[\%] \tag{39}$$

$$r_4 = \frac{r_3}{1 - e^{-r_3 t_E}} \tag{40}$$

$$r_4 = \frac{r_3}{1 - \frac{U_{max}}{S}} \tag{41}$$

t_E = mittl. Erythrozyten-Reifungszeit
S = Schnittpunkt der Funktion (39) mit der Achse t_0
r_4 = Ratenkonstante $\frac{EEU}{V_B}$

Die beiden graphisch und rechnerisch ermittelten Werte für r_4 differieren zuweilen beachtlich. Das liegt zum einen daran, dass es sich in beiden Fällen um Näherungsmethoden handelt, mit deren Hilfe eine Gleichung analysiert wird, die die

Utilisationskurve näherungsweise beschreibt. Zum anderen daran, dass bei kleinen Werten von t_E die graphische Methode versagt, die rechnerische aber durch den genauen Wert von t_E gute Ergebnisse liefert, während bei grossen Werten von t_E dieser nur relativ ungenau zu bestimmten ist und deshalb die graphische Methode der rechnerischen überlegen ist. Diese Gesichtspunkte sind bei der Bewertung der Ergebnisse zu berücksichtigen. Es sei darauf hingewiesen, dass auch ein fehlerhaft gewählter Wert für die maximale Utilisation häufig ein Grund für falsche Ergebnisse ist.

Den Bezugspunkt für die beiden Ratenkonstanten finden wir in der spezifischen Aktivität des Plasmas C_t. Sie wird am besten im Urin nach Injektion von Desferrioxamin am 3. Tag nach der ^{59}Fe-Injektion bestimmt. Mittels dieses Wertes C_t [= C_A der Gleichung (28)] und der Ratenkonstanten r_3 läst sich nach Gleichung (28) auf halblogarithmischem Papier graphisch leicht der Wert C_A bestimmen. Die weitere Berechnung folgt den Angaben von POLLYCOVE und MORTIMER [153, 157] [Gleichungen (42, 48)].

$$b = r_3 + C_A(r_1 - r_3) \tag{42}$$

$$c = r_1 + r_3 \tag{43}$$

$$e = r_1 \times r_3 \tag{44}$$

$$\text{Ratenkonstante von AK} = c - b \tag{45}$$

$$\text{Ratenkonstante von EEU} = \frac{e}{\text{Ratenkonstante von AK}} \tag{46}$$

$$\text{Ratenkonstante von ER} = b - \text{Ratenkonstante von EEU} \tag{47}$$

$$\text{LEP} = \frac{\text{Ratenkonstante von AK}}{b} \times \text{PE} \tag{48}$$

$$V_B = \frac{\text{EEU}}{r_4} \tag{49}$$

Die einzelnen Umsatzgrössen errechnen sich durch Multiplikation des Pools, dem sie entströmen mit den oben errechneten Ratenkonstanten. Mit Hilfe der geschilderten Analyse der Utilisationskurve ist es also erstmalig möglich, durch eine Routine-Methode die Grösse des Erythroblasten-Eisen-Pools quantitativ

zu bestimmen. Die Bedeutung dieses Wertes und seiner Veränderungen in pathologischen Fällen muss die klinische Anwendung zeigen.

Es gibt nun pathologische Veränderungen des Eisenstoffwechsels, die eine Erweiterung der Gleichung (38) verlangen. Zunächst sei der sehr häufige Fall berücksichtigt, dass Eisen aus dem Plasma oder dem labilen Eisen-Pool in das RES abwandert, Angenommen, es erfolgt innerhalb der Untersuchungsperiode kein Rückfluss des abgewanderten Eisens aus dem RES, dann kann die Eisenaufnahme des RES im Modell nach POLLYCOVE (Abb. 8) als Leck des Plasmaeisens bzw. des labilen Eisen-Pools aufgefasst werden. Wir werden dann zweierlei beobachten:

1. Die maximale Utilisation wird um das Verhältnis des Erythrozyteneisen-Umsatzes zur Summe des Erythrozyteneisen-Umsatzes und des Eisenabstroms ins RES erniedrigt sein [Gleichung (50)].
2. Die Ratenkonstanten r_1 und r_3 werden durch den Eisenabstrom ins RES um seine Ratenkonstante vergrössert [Gleichung (51)].

Mit Hilfe der maximal erreichten Utilisation kann also die Ratenkonstante r_3 aufgeteilt werden in ihre beiden Summanden [Gleichungen (52) und (53)]. Die weiteren Berechnungen folgen dem oben gezeigten Weg.

$$U'_{max} = \frac{EEU}{EEU + EA} \times U_{max} \tag{50}$$

$$r_3 = \frac{EEU + EA}{V_A} \tag{51}$$

$$\frac{EEU}{EEU + EA} \times r_3 = \frac{EEU}{V_A} \tag{52}$$

$$r_3\left(1 - \frac{EEU}{EEU + EA}\right) = \frac{EEU}{V_A} \tag{53}$$

Nun wird auch deutlich, warum FELLINGER et al. mit ihrer Methode zu hohe Werte für den Erythrozyteneisen-Umsatz erhielten. Sie vernachlässigten einmal, dass die nicht in den Erythrozyten erschienenen Impulse nicht nur im Pool V_A, sondern auch im Pool V_B sind. Dadurch wird V_A um etwa 30-40 % zu hoch kalkuliert und damit auch der Erythrozyteneisen-Umsatz. Zum anderen haben sie übersehen, dass eine Abwanderung von Eisen in das RES

nicht nur in die Grösse der maximalen Utilisation eingeht, sondern auch in die Ratenkonstante r_3.

Beide Fehler vermeidet die hier entwickelte Methode, verbindet die Genauigkeit der Aktivitätsmessung im Vollblut mit der des Modells von POLLYCOVE und umgeht die schwierige Bestimmung der spezifischen Aktivität im Plasma durch Desferrioxamingabe und Aktivitätsmessung im Urin.

WEITERE ANWENDUNGEN DER UTILISATIONSGLEICHUNG.

Es ist zu beachten, dass nicht nur eine Abwanderung von Eisen in das RES die maximale Utilisation vermindern kann. Ein Eisenabstrom in vergrösserte Eisenspeicher erniedrigt diesen Wert ebenso wie eine früh einsetzende Hämolyse, sei es, dass sie schon die Erythroblasten betrifft, sei es, dass durch einen erythrozytenaltersunabhängigen Abbaumechanismus junge, eben erst in das periphere Blut entlassene Erythrozyten zerstört werden. In beiden Fällen beobachtet POLLYCOVE zwischen der zweiten und dritten Woche nach ^{59}Fe-Injektion einen konstanten ^{59}Fe-Spiegel im Plasma. In diesem Zeitraum tritt sowohl ein Rückfluss des Radioeisens aus den Eisenspeichern als auch aus dem RES auf, in dem das durch frühe Hämolyse freigewordene Hämoglobin abgebaut wurde. POLLYCOVE versuchte, beide Komponenten durch semiquantitative Oberflächenmessungen der Leber und Milz aufzuteilen. Es ging dabei von der Annahme aus, dass die Leber für 50 % der Eisenspeicher repräsentativ sei. Dagegen ist einzuwenden, dass dem RES sowohl in der Leber als auch in der Milz im Erythrozyten-Abbau eine beachtliche Rolle zukommt. Ohne auf die Problematik dieser Differenzierung näher einzugehen, sei nur darauf hingewiesen, dass eine gemeinsame Analyse der Kurven der spezifischen Aktivität des Plasmaeisens und der Utilisation hier weitere Informationen liefern kann.

Auf den besonderen Fall einer sehr starken Hämolyse soll noch kurz eingegangen werden. In diesem Fall tritt schon in Tagesfrist ein konstanter ^{59}Fe-Spiegel auf, sodass das zur Erythropoese gelangende Eisen eine praktisch konstante spezifische Aktivität hat. Die Ratenkonstante r_3 der Utilisationskurve wird in diesem Fall ersetzt durch die Fraktion des durch den Erythrozyteneisen-Abbau EEA umgesetzten Erythrozyten-Eisens [Gleichung (54)]. Die maximale Utilisation wird durch den erweiterten Verteilungsraum erniedrigt [Gleichung (55)].

$$r'_3 = \frac{EEA}{Ery - Fe} \tag{54}$$

$$U'_{max} = \frac{Ery - Fe}{V_A + V_B + Ery - Fe} \times U_{max} \tag{55}$$

EEA = Erythrozyteneisen-Abbau
Ery-Fe = Gesamtes Erythrozyten-Eisen

DIE BERECHNUNG DER MITTLEREN ERYTHROZYTEN-LEBENSZEIT.

Eine Bestimmung des Erythrozyteneisenumsatzes gestattet eine Berechnung der mittleren Lebenszeit der Erythrozyten [Gleichung (56)]. Da 3,4 mg Eisen 1 g Hämoglobin entsprechen, ist das Gesamt-Ery-Eisen aus dem Gesamt-Hämoglobin zu ermitteln [Gleichung (57 und 58)]. Bei gestörter HB-Bilanz muss der Nenner der Gleichung (56) durch den Ausdruck (59) ersetzt werden. Der Wert der aus dem Eisen-Stoffwechsel berechneten mittleren Lebenszeit wurde schon im Kapitel « ^{51}Cr-Ery-Vita » (Teil I) besprochen.

$$\text{mittl. Lebenszeit} = \frac{\text{Gesamt - Ery - Eisen}}{\text{EEU}} \tag{56}$$

$$\text{Gesamt - Hb}\,[\text{g}] = \frac{\text{Blutvolumen}\,[\text{ml}] \times \text{Hb}\,[\text{g\%}]}{100} \tag{57}$$

$$\text{Gesamt - Ery - Eisen}\,[\text{mg}] = \text{Gesamt - Hb}\,[\text{g}] \times 3{,}4\,[\text{mb/g}] \tag{58}$$

$$\text{EEU} \begin{matrix} + \text{ täglicher Hb-Verlust } [\text{g/d}] \times 3{,}4\,[\text{mg/g}] \\ - \text{ täglicher Hb-Zuwachs } [\text{g/d}] \times 3{,}4\,[\text{mg/g}] \end{matrix} \tag{59}$$

TEIL III

Praxis der Erythrokinetics und Messtechnik

PRAXIS DER ERYTHROKINETICS

Da zur Berechnung der Eisen-Stoffwechseldaten auch das Blutvolumen benötigt wird, nimmt man mit ^{51}Cr-markierten Erythrozyten simultan zu den Ferrokinetics eine Blutvolumen-Bestimmung vor und schliesst eine Messung der ^{51}Cr-Ery-Vita an. Für die Simultan-Untersuchung mit ^{51}Cr-Erys und ^{59}Fe hat sich die Bezeichnung « Erythrokinetics » eingebürgert [GIBLETT et al. (66)].

Wir verfahren wie folgt: Zu 4 ml ACD-Puffer werden 16 ml Patientenblut entnommen und zentrifugiert. Das Plasma wird abpipettiert und in einem Glas mit 15-20 µC ^{59}Fe bei Zimmertemperatur inkubiert. Dem Erybrei wird nach Umschütteln (damit nicht eine ungleiche Markierung eintritt: Stärkere Markierung der jungen Erythrozyten an der Oberfläche des Zentrifugates) 60-100 µC ^{51}Cr zugesetzt. Nach 30 min Inkubation bei 37° C und zweimaligem Waschen der Erythrozyten wird das ^{59}Fe-Plasma zugesetzt und mit 0,1 ml nach guter Durchmischung eine 1:1000 Verdünnung angesetzt; 1 ml davon dient als Standard. Ein genau abgemessenes Volumen wir reinjiziert. Innerhalb der ersten Stunde werden in regelmässigen Abständen mit einer Blutzuckerpipette aus dem Ohrläppchen oder der Fingerbeere ca. viermal 0,1 ml Blut entnommen und in ein Messgläschen mit ca. 0,9 ml

aqua dest. ausgeblasen, wonach die Pipette durch dreimaliges Wiederaufsaugen und –ausblasen zu spülen ist. Weitere Blutproben von 0,1 ml werden täglich und nach einer Woche in mehrtägigen Abständen entnommen; wenn möglich über 21 Tage hinweg. Am dritten Tag wird die spezifische Aktivität des Plasmas bestimmt. Dazu werden 50 mg Desferrioxamin i. v. injiziert und die spezifische Aktivität des 24-Stunden-Sammelurins gemessen. Besteht der Verdacht auf stoffwechselaktive Eisenspeicher oder eine starke Hämolyse, so wird am 1. Tag die spezifische Aktivität des Plasmaeisen über 24 Stunden in Plasmaproben verfolgt und anschliessend eine Woche im Urin mittels der Desferrioxamin-Methode.

Mit Hilfe der in den beiden vorausgegangenen Teilen erläuterten Formeln lassen sich dann folgende Werte berechnen, die z. T. – besonders die des labilen Eisen-Pools, des Erythroblasten-Eisen-Pools und der mittl. Erythrozyten-Reifungszeit – noch der Überprüfung durch ein grösseres Krankengut bedürfen:

	Normwerte:
Gesamt - Blut - Volumen	64 ml/kg
Erythrozyten - Volumen	24 ml/kg
Plasma – Volumen	40 ml/kg
^{51}Cr-Ery-Vita, $T_{1/2}$	28 - 34 Tage
Gesamt – Plasma – Eisen	40 µg/kg
Plasmaeisen – Umsatz	500 µg/kg/d
Eisenabstrom ins Knochenmark	400 - 500 µg/kg/d
Eisenrückstrom vom Knochenmark	90 – 190 µg/kg/d
Eisenabwanderung ins RES	0 – 100 µg/kg/d
Labiler Eisen – Pool	~ 900 µg/kg
Eisen in den Erythroblasten	~ 300 µg/kg
mittl. Ery-Reifungszeit	1,0 – 1,5 Tage
Gesamt – Hb	11 g/kg
Gesamt – Ery – Eisen	37 mg/kg
Hb – Synthese pro Tag	91 mg/kg/d
Erythrozyteneisen – Umsatz	310 µg/kg/d
mittl. Erythrozyten – Lebenszeit	120 Tage

Nach der allgemeinen Formel (60) lassen sich aus Plasmavolumen und den Serumkonzentrationen noch folgende hämatologisch interessanten Daten berechnen:

Gesamt-zirkulierendes Eiweiss .....3 g/kg
Gesamt-zirkulierendes Albumin .....1,85 g/kg
Gesamt-zirkulierendes Haptoglobin .....46 mg/kg

$$\text{Gesamtmenge} = \text{Volumen} \times \text{Konzentration} \tag{60}$$

Um ältere Erythrokinetik-Untersuchungen, bei denen die spezifische Aktivität des Plasmaeisens aus methodischen oder technischen Gründen noch nicht über mehrere Tage verfolgt wurde, unter den neuen Gesichtspunkten des Modells von POLLYCOVE und der Utilisationsformel nachträglich auswerten zu können, gingen wir folgendermassen vor:

Nach Formel (8) wurde aus der ^{51}Cr-Ery-Vita die mittlere Erythrozyten-Lebenszeit geschätzt. Die entsprechend umgestellte Gleichung (56) liefert dann den Erythrozyteneisen-Umsatz, wobei für gestörte Hb-Bilanzen die Ergänzung (59) berücksichtigt wurde. Der Erythrozyteneisen-Umsatz wird dann in die Gleichung (29) und (49) eingesetzt, wodurch man die Grösse des Pools V_A und des Pools V_B erhält. Mit Gleichung (53) hat man den Eisenabstrom ins RES EA errechnet, der zusammen mit dem Plasmaeisenumsatz in der Formel (61) die Errechnung des Eisenabstroms ins Knochenmark AK erlaubt. Gleichung (62) liefert schliesslich den Eisenrückstrom vom Knochenmark.

$$AK = PEU - EA \tag{61}$$

$$ER = AK - EEU \tag{62}$$

Diese Methode hat sich uns sehr bewährt. Es gelang auf diese Weise auch bei älteren Untersuchungen, Einblicke in Veränderungen des Eisenstoffwechsels zu gewinnen, die durch Auswertung nach HUFF et al. [112] nicht möglich waren. Der bei der Schätzung nach Formel (8) auftretende Fehler fällt nicht so sehr ins Gewicht, da auch in die Methode nach POLLYCOVE ein nicht geringer Fehler eingeht. Alle Berechnungen fussen nämlich auf der chemischen Bestimmung des Plasmaeisens. Im Teil II wurde

schon erläutert, dass der Plasmaeisenspiegel im Laufe eines Tages erheblich schwankt, ebenso von Tag zu Tag, sodass seine Bestimmung immer nur ein Augenblicksbild erfasst. Es sei auch darauf hingewiesen, dass die Methode der chemischen Bestimmung sehr anfällig für Fehler ist, sodass man auch auf die geschilderte Auswertemethode zurückgreifen wird, wenn nur unzuverlässige Laborwerte für den Plasmaeisenspiegel zur Verfügung stehen.

MESSTECHNIK

MESSUNG DER BLUTPROBEN.

^{51}Cr hat eine Halbwertszeit von 27,8 Tagen. Es zerfällt durch Einfang eines Elektrons der K-Schale und emittiert dabei 8% der Energie als γ–Strahlung von 0,32 MeV.

^{59}Fe hat eine Halbwertszeit von 45 Tagen und ist ein Betastrahler mit nahezu 100 % γ-Anteil. Die Hauptlinien seines γ–Spektrums liegen bei 1,1 und 1,3 MeV.

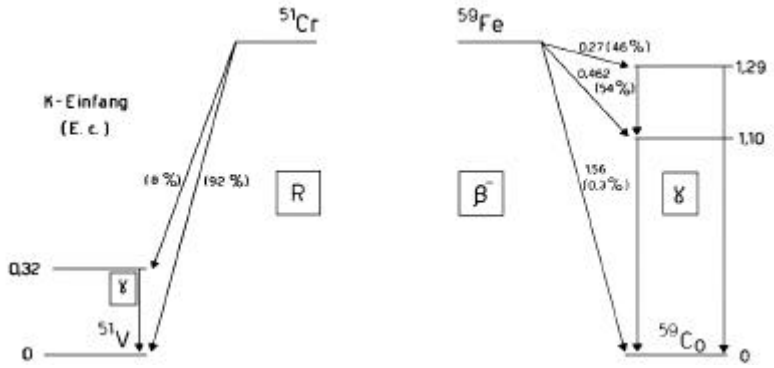

ABB. 13

Zerfallsschemata von ^{51}Cr (li) und ^{59}Fe (re).

γ-Strahlung lässt sich mit einer guten Ausbeute und ohne besondere Präparation durch einen Scintillationszähler messen. Der Kopf der verwendeten Sonde besteht aus einem NaJ-Kristall, der mit Thallium aktiviert ist. Der Kristall, der mit einer Bohrung von 17 mm Ø und 45 mm Tiefe versehen ist, nimmt die Messprobe mit einer Messgeometrie von nahezu 4 π auf. Die Spektralsonde P 20 B (*) liefert Impulse, deren Spannung proportional zur Energie der auslösenden γ–Quanten ist. Ihre Bleiabschirmung hat eine Dicke von 70 mm. Die Impulse werden im Linearverstärker des

(*) Instrumente von Tracerlab Inc.

Impulshöhenanalysators RL1-4 (*) verstärkt. Für die simultane Messung von ^{51}Cr und ^{59}Fe wurde ein zweiter Kanal eingebaut. Die obere und untere Schwelle der Kanäle kann beliebig zwischen 0 und 100 Volt festgelegt werden. Die Genauigkeit und Konstanz der Einstellung ist umso besser, je mehr die Spektren gespreizt werden. Die Spreizung für ^{59}Fe ist optimal, wenn die 1,3 MeV-Linie gerade bei 100 Volt ausläuft, was durch entsprechende Einstellung der Verstärkung leicht erreicht werden kann. An die Ausgänge der beiden Kanäle sind ein Superscaler (*) und ein Tracermatic (*) als Zählgeräte angeschlossen.

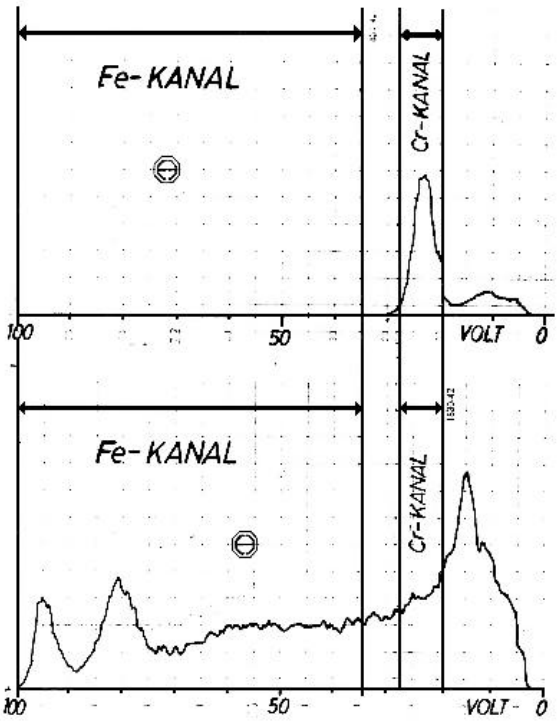

ABB. 14

^{51}Cr- (oben) und ^{59}Fe- (unten) γ–Spektren. Die zur simultanen Messung gewählten Kanalhöhen und Kanalbreiten sind eingezeichnet.

Zur Einstellung der richtigen Verstärkung und zur Wahl der optimalen Kanalhöhen und –breiten hat sich folgende Anordnung bewährt.

(*) Instrumente von Tracerlab Inc.

An den Ratemeter des Superscalers wird ein Linienschreiber angeschlossen und auf eine Vorschubgeschwindigkeit von 1200 mm/h eingestellt. Am Ratemeter wird eine Zeitkonstante von 2,5 sec. gewählt. In die Bohrlochsonde wird eine Probe gestellt, die soviele Impulse liefert, dass man bei einer Kanalbreite von 3 Volt noch $10^3 - 10^4$ Impulse pro min. am höchsten Gipfel des Spektrums erhält. Dann werden Zähler und Schreiber gestartet und synchron zum Minutenzählwerk die Kanalhöhe so verstellt, dass man mit jeder zehntel Minute um ein Volt weiterdreht. Auf diese Weise erhält man in 10 min ein ^{59}Fe-γ-Spektrum und in 3-4 min. ein ^{51}Cr-γ-Spektrum, die auf dem Schreiber 20 cm bzw. 6-8 cm einnehmen.

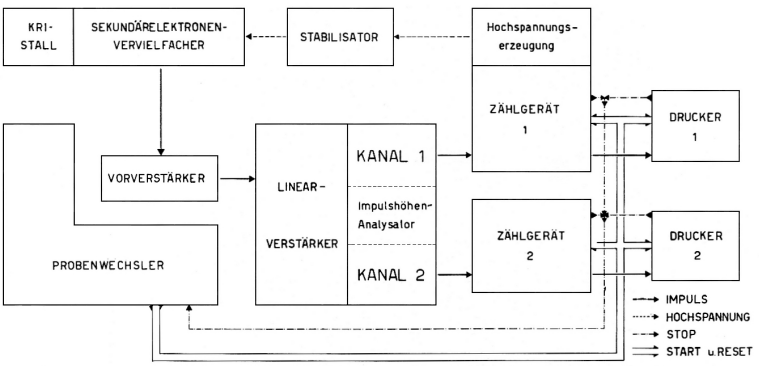

ABB. 15

Blockschaltbild der Messapparatur.

Mit dieser schnellen Methode können im Routinebetrieb in kürzeren Abständen die Lagen der Spektren überprüft und immer die optimalen Kanalhöhen und –breiten eingestellt werden.

Wie aus Abb. 14 ersichtlich, lässt sich für ^{59}Fe eine Kanaleinstellung wählen, die eine hohe Messausbeute ohne Einstreuung der ^{51}Cr-Aktivität gestattet. In dem Bereich, aus dem der ^{51}Cr-Gipfel herausgeblendet wird, liegt aber ein Teil der ^{59}Fe-Aktivität. Deshalb muss bei jeder Messserie eine reine ^{59}Fe-Probe mitgezählt werden, um zu ermitteln, wieviel Prozent der auf dem Fe-Kanal gezählten Impulse im Cr-Kanal mitgezählt werden. Mit Hilfe dieses Wertes wird für jede Messprobe, die beide Radionuklide enthält, errechnet, wieviele der im Cr-Kanal angezeigten Impulse auf das ^{59}Fe entfallen. Diese in den ^{51}Cr-.Kanal eingestreuten ^{59}Fe-Impulse werden zusammen mit dem Nulleffekt von der angezeigten Impulsrate abgezogen, um die Netto-^{51}Cr-Impulsrate zu erhalten. Bei unserer Einstellung erscheinen ca. 25-30 % der ^{59}Fe-Impulse zusätzlich im Cr-Kanal.

Die Messproben werden in Gläschen gefüllt, die 11 mm lichte Weite und 65 mm Höhe besitzen und durch einen Aluminium-Schraubdeckel verschlossen werden. Der Deckel besitzt unter dem Korkplättchen eine

Eisenblecheinlage, damit er vom Magneten des Probenwechslers gegriffen werden kann. Dieser Probenwechsler Autowell (*) kann 50 Proben aufnehmen. And die beiden Zählgeräte sind zwei Zeitdrucker Tracergraph (*) angeschlossen, die auf eine hundertstel Minute genau die Zeit drucken, die zum Erreichen einer vorgewählten Impulszahl benötigt wurde, und die Nummer der Messprobe. Die Probe wird erst gewechselt, wenn beide Zähler die vorgewählte Impulszahl erreicht haben (Abb. 15).

Es wurde immer mit einer Impulsvorwahl von 1000 Impulsen gearbeitet und jede Probe dreifach gemessen. Die Verdünnung der Standardlösungen ist so gewählt, dass die Impulsraten unter 1000 pro min. liegen. Der Hauptgrund für diese Massnahme ist die Verschiebung der Comptonkante bei verschiedener ^{59}Fe-Präparate-Stärke und damit die Abhängigkeit des Prozentsatzes ^{59}Fe, der im Cr-Kanal mitgezählt wird, von der Impulsrate der Probe.

Die geschilderten Massnahmen erlauben es, nur 0,1 ml Blut zur Messung zu verwenden, das in ca. 0,9 ml aqua dest. eingeblasen wird. Das Wasser erlaubt ein Spülen de Pipette und durch die eintretende Hämolyse erreicht man eine gleichmässige Verteilung und damit die gleiche Messgeometrie wie beim Standard. Die Netto-Impulsraten, also nach Abzug des Nulleffektes, liegen beim ^{59}Fe beim ca. 2 fachen des Nulleffektes (ca. 27 I/min.) und beim ^{51}Cr beim ca. 3-5 fachen des Nulleffektes (ca. 18 I/min.).

Da die Entnahme von 0,1 ml Blut aus dem Ohrläppchen oder der Fingerbeere von angelerntem medizinisch-technischem Hilfspersonal vorgenommen werden kann, ist das eine wesentliche Erleichterung und ein Schritt zur Entwicklung der Erythrokinetics zur Routine-Methode. Nicht zu übersehen ist auch die Entlastung für den Patienten. Besonders am Tag der Markierung war es früher zur Ermittlung der Plasmaeisen-Verschwindensraten-(konstante) nötig, entweder eine Verweilkanüle zu legen oder mindestens 6 einzelne Venenpunktionen vorzunehmen.

Zur Ermittlung der ^{59}Fe-Konzentration im Plasma einige Tage nach der Injektion war es wünschenswert, eine grössere Menge als 1 ml zu messen, um wenigstens die untere Grenze des Messbaren noch zu erreichen (ca. 10 % des Nulleffektes). Je höher aber die Füllung des Bohrloches reicht, umso mehr nimmt die Messgeometrie vom idealen 4π-Wert ab. Für ein Teilchen am oberen Niveau des Bohrloches beträgt sie nur noch 2p. Es wurde daher durch eine Messreihe die Messgeometrie für eine Füllung der Messgläschen von 0,1 – 5,0 ml aufgestellt. In 50 Gläschen wurde ungefähr 0,1 ml einer aktiven Lösung einpipettiert. Nach Messung der Aktivität wurden in Schritten

(*)Instrumente von Tracerlab Inc.

von 0,1 ml in die Gläschen 0 – 5 ml aqua dest. einpipettiert. Danach wurde wieder die Aktivität gemessen. Das Ergebnis zeigt die Abb. 16.

Die durch diese Messreihe ermittelte Kurve gestattet für jede Füllung des Messgläschens eine Korrektur der gemessenen Impulsrate I_G auf die reale Impulsrate I_R [Gleichung (63)].

$$I_R = \frac{I_G \times 100}{\text{Messausbeute}\,[\%]} \tag{63}$$

I_R = reale Impulsausbeute
I_G = gemassene Impulsrate.

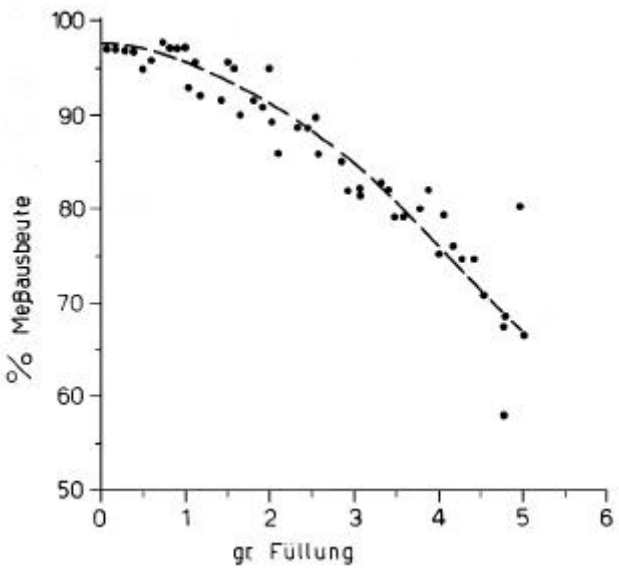

ABB. 16

Abhängigkeit der Messausbeute von der Füllung des Messgläschens.

MESSUNG DES SAMMELURINS.

Die Schwierigkeiten der Plasmamessung wurden dann durch die Gabe von Desferrioxamin umgangen. Es ist nun wünschenswert, die Dosis von Desferrioxamin möglichst klein zu halten, um den Eingriff in den Eisenstoffwechsel auf ein Minimum zu senken. Dieses Ziel kann man durch Messung grosser Volumina

erreichen, die bei 24-Stunden-Sammelurin mühelos zu beschaffen sind.

Für die Messung dieser Menge wurde die Bohrlochsonde FH 488 (*) in der Bleikammer FH 412 (*) benutzt. Der Kristall der Sonde hat 60 mm Höhe und 65 mm Ø und ein Bohrloch von 14 mm Ø und 40 mm Tiefe. Über diesen Kristall kann ein Ringgefäß gestülpt werden mit 158 mm Höhe und 130 mm Ø und einem Fassungsvermögen von 1,2 Liter. Die Bleiabschirmung misst 105 mm. Die Sonde wurde über ein FH 258 - Spektrometer (*) an ein FH 49 - Zählgerät (*) angeschlossen. Die Einstellung der Verstärkung und die Feststellung des Messkanals geschieht nach der oben angeführten Methode. Erleichternd ist hier, dass im FH 58 ein Synchronmotor die Kanalhöhe mit vorwählbarer Geschwindigkeit durchdreht. Da nur eine Kanalbreite von 30 Volt zur Verfügung steht bei einer Messung des Differentialspektrums, wurde zur Messung des ^{59}Fe mit der Kanalhöhe nur die untere Grenze festgelegt und durch Umschalten auf Integralmessung zwischen dieser Grenze und 100 Volt gemessen.

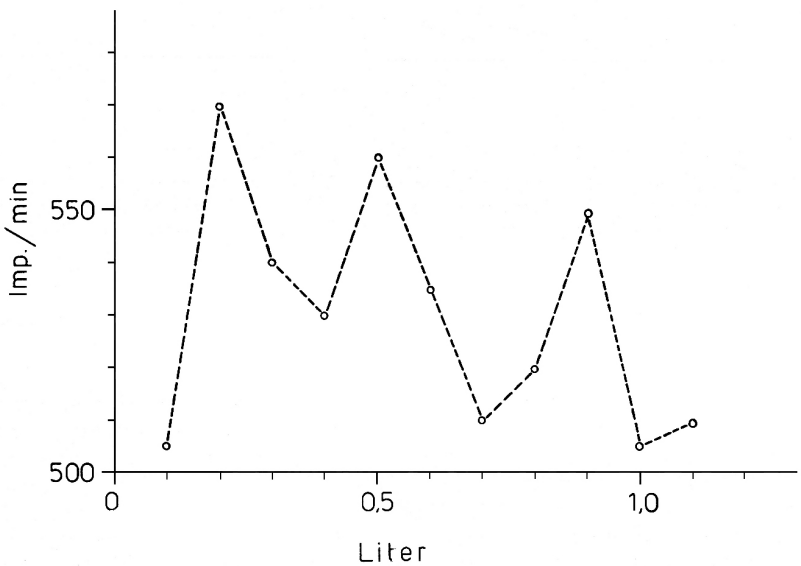

ABB. 17

Messreihe 1 zur Ermittlung der Messgeometrie der Sonde FH 488.

In zwei Messreihen wurde zunächst die Messgeometrie der Sonde festgelegt. Eine bestimmte Menge ^{59}Fe und ^{51}Cr wurde in 100 ml aqua dest. gemessen und dann in Etappen mit aqua dest. auf 1100 ml aufgefüllt und bei jeder Etappe nach gründlichem Vermischen die Impulsrate gemessen. Um

(*) Instrumente von Fa. Friesecke und Hoepfner.

eine Kontamination des Plastikbeutels zu vermeiden, mit dem das Ringgefäss ausgekleidet ist, wurde mit Zusatz von $FeCl_3$ und K_2CrO_4 (wenige Milligramm) als Träger gearbeitet. Die Abb. 17 zeigt das Ergebnis der Messreihe. Die Abb. 18 zeigt das Ergebnis einer zweiten Messreihe, bei der die radioaktive Lösung in Etappen zugegeben wurde. Bestimmt man die Steigung dieser Kurve in jedem Messpunkt und trägt sie gegen die Füllung auf, erhält man wieder denselben Trend wie beim vorhergehenden Versuch.

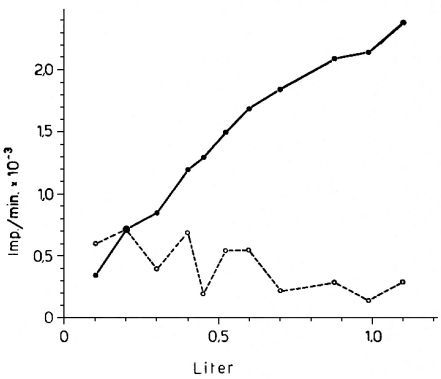

ABB. 18

Messreihe 2 zur Ermittlung der Messgeo metrie der Sonde FH 488. Kreise: Steigung der Kurve in jedem Messpunkt.

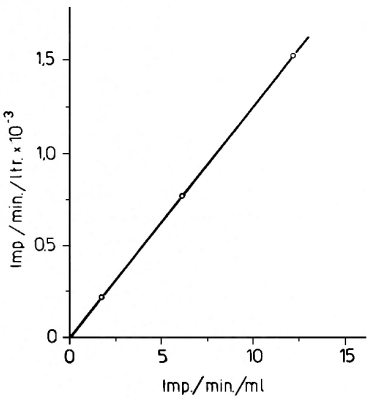

ABB. 19

Messreihe 3 zur Ermittlung der Messgeometrie der Sonde FH 488. Ordinate: Impulsausbeute bei Messung im Ringgefäss (1 Liter). Abszisse: Theoretisch zu erwartende Impulsrate von 1 ml derselben Lösung bei Messung im Bohrloch.

Als 2. Versuch wurde die Empfindlichkeit mit der Bohrloch-Messung verglichen. 1 ml einer Standardlösung wurde im Bohrloch gemessen. Danach wurden verschiedene Mengen dieser Standardlösung auf 1 Liter verdünnt und im Ringgefäss gemessen. Die Abb. 19 zeigt die erhaltene Impulsrate, aufgetragen gegen die Aktivität, die 1 ml der Verdünnung theoretisch im Bohrloch ergeben müsste. (Berechnet aus der Messung von 1 ml Standard im Bohrloch und dem Verdünnungsfaktor im Ringgefäss).

Zusammengefasst haben diese drei Messreihen folgendes Ergebnis. Mit Hilfe des Ringgefässes lassen sich in grossen Volumina geringe Aktivitäten messen, die im Bohrloch weit unter der Nachweisgrenze liegen. Ein Vergleich der beiden Messmethoden zeigt eine befriedigende Linearität über eine Zehnerpotenz im interessierenden Messbereich. Es empfiehlt sich bei der Messung im Ringgefäss immer die gleiche, möglichst genau eingefüllte Volumina zu messen, wobei die Kapazität des Ringgefässes (ca. 1 Liter) voll

ausgenutzt werden sollte.

OBERFLÄCHENMESSUNG.

Eine Messung der Impulsraten inkorporierter Radionuklide von aussen ist natürlich nur bei γ–Strahlern möglich, deren Energie ausreicht, das Gewebe zu durchdringen; ausserdem ist noch die Streustrahlung energiereicher Betastrahler zu erfassen, wenn sie nahe der Hautoberfläche liegen und die Vernichtungsstrahlung von Positronen-Strahlern. Dieser Gesichtspunkt war bei der Auswahl von ^{51}Cr und ^{59}Fe als Radionuklide in der hämatologischen Diagnostik nicht unmassgeblich.

Bei der Oberflächenmessung sind drei Methoden zu unterscheiden. Die Gesamt-Körper-Messung, das « Scannen » und die Messung einzelner Organe.

Es wird viel nach einer Markierungsmethode gesucht, die ähnlich dem DFP-32 (Diisopropyl-fluoro 32 phosphat), sofort nach Zerstörung des Hämoglobin-Moleküls ausgeschieden wird und gleichzeitig die Verwendung eines γ–Strahlers gestattet. Dann nämlich wäre es möglich, durch Ganzkörpermessung ohne zahlreiche Blutentnahmen die Erythrozyten-Lebenszeit zu messen. Gegen die Entwicklung und Anwendung dieser Methode dürften zwei Gründe sprechen. Die ^{51}Cr-Ery-Vita allein ist eine etwas kärgliche Information und bei der simultanen Anwendung von ^{59}Fe kann man auf die Blutentnahmen nicht verzichten. Wie schon oben erläutert, gestattet ausserdem gerade die Eigenschaft eines Indikators, nach Abbau des Hb-Moleküls eine gewisse Zeit am Ort des Abbaus zu verweilen, bei der Verwendung von ^{51}Cr und ^{59}Fe durch Oberflächenmessen wertvolle Informationen.

Das von HUFF et al. vorgeschlagene Scannen hat selbst bei einer Beschränkung auf 50 über die Körperoberfläche gleichmässig verteilte Messpunkte den erheblichen Nachteil eines grossen Zeitaufwandes [110]. Wenn diese Methode vielleicht auch noch die beste semiquantitative Aussage gestattet, so lohnt das doch nicht ihren Einsatz in der Routinediagnostik.

Die Einzelmessung hämatologisch wichtiger Organe hat sich weitgehend durchgesetzt. Da die Messung über 3 Wochen fortgesetzt wird, dürfen Fehler in der Lokalisation der Messsonde das Messergebnis nur geringfügig beeinflussen. Daher verwenden wird eine Sonde mit weitwinkliger Kollimation. Der Kollimator ist ein Blei-Zylinder von 72 mm Öffnung und 35 mm Dicke, in dem die Sonde etwa 25 mm zurückgezogen ist. Die Festlegung der ^{51}Cr- und ^{59}Fe-Spektren und die weitere Einstellung der Apparatur erfolgt wie oben für die Bohrloch-Messsonde beschrieben. Die Lokalisation erfolgt über Leber, Milz, Herz und Kreuzbein. Bei der Lokalisation über Leber und Milz werden

auch das RES und das erythropoetische Knochenmark der Rippen miterfasst (BUSH et al. [28]). Wir messen über dem Herzen, um durch Kurvenvergleich den Einfluss der Rippen erkennen und eliminieren zu können (dabei wird die Sonde links vom Sternum lokalisiert). Das Kreuzbein messen wir als Repräsentanten des roten Knochenmarks, weil wir hier die grösste Dichte von Mark unter der Fläche der Messsonde erhalten und gleichzeitig der Einfluss der anderen Organe sehr niedrig ist.

Zur simultanen Messung von ^{51}Cr und ^{59}Fe ohne Differentialdiskriminator wurde empfohlen, den energieärmeren Strahler (also hier das ^{51}Cr) mit einem Bleifilter abzuschwächen (CROOK and SZUR [37], VETTER und VEALL [196]). Angenommen, der Durchlass des Bleifilters für ^{59}Fe sei F_1 (als Fraktion von 1) und der für ^{51}Cr F_2, die Impulsrate ohne Filter N_0 und die mit Bleifilter N_{Pb}, dann gelten die beiden Gleichungen (64) und (65). Sind N_0 und N_{Pb} sowie F_1 und F_2 bekannt, errechnen sich die Impulsraten des ^{59}Fe und des ^{51}Cr aus den Gleichungen (66) und (67).

$$N_0 = I_{Fe} + I_{Cr} \tag{64}$$

$$N_{Pb} = I_{Fe} \times F_1 + I_{Cr} \times F_2 \tag{65}$$

$$I_{Fe} = \frac{N_{Pb} + N_0 \times F_2}{F_1 - F_2} \tag{66}$$

$$I_{Cr} = N_0 - I_{Fe} \tag{67}$$

Diese Methode haben wir auch erprobt, als wir gleichzeitig Sonden über allen vier Messstellen lokalisierten, wofür uns keine Spektralsonden zur Verfügung standen. Wir verwendeten ein 4 mm starkes Bleifilter. F_1 betrug 0,68, F_2 0,08. Es zeigt sich aber, dass der Rechenaufwand für eine Routinemethode unzumutbar ist.

Die Impulsrate, die über einem Organ gemessen wird, setzt sich zusammen aus der Impulsrate, die das Organparenchym netto enthält, und der Impulsrate, die im Blut enthalten ist, das durch das Organ strömt. Kurz nach Injektion des Tracers, wenn er sich gleichmässig verteilt hat, ist die Nettoimpulsrate noch gleich Null; man misst also die Tara-Aktivität. Bei Radionukliden, die das Blut sehr schnell verlassen, wie z.B. das ^{59}Fe, trägt man die Mess-Werte der ersten Stunden halblogarithmisch auf, extrapoliert nach t_0 und kann so die Tara-Aktivität I_t bestimmen. Auf dieselbe Weise hat man auch die Konzentration des Indikators im Blut zur Zeit t_0 C_{Bl_0} ermittelt. Die Konzentration zur Messzeit t im Blut C_{Bl_t} wird benutzt, um die Taraaktivität I_t der Messzeit t

zu ermitteln [Gleichungen (68) und (69)]. Die Nettoimpulsrate I des Organs erhält man, indem man die Tara-Impulsrate von der Brutto-Impulsrate I_{ges} abzieht [Gleichung (70)].

$$I_t : I_{t_0} = C_{Bl_t} : C_{Bl_0} \tag{68}$$

$$I_t = I_{t_0} \times \frac{C_{Bl_t}}{C_{Bl_0}} \tag{69}$$

$$I = I_{ges} - I_{t_0} \times \frac{C_{Bl_t}}{C_{Bl_0}} \tag{70}$$

Die Interpretation von Oberflächenmessungen, ihre Anwendung in der Differentialdiagnose hämolytischer Erkrankungen ist schon ausführlich beschrieben und diskutiert worden von zahlreichen Autoren, weshalb im Rahmen dieser Arbeit nicht näher darauf eingegangen werden soll.

Um die Leistungsfähigkeit der Methode zu demonstrieren, soll hier nur ein Beispiel erläutert werden (s. Abb. 20). Wenden wir uns zunächst der Kurve der ^{51}Cr-Aktivität über den Organen zu. Der Anstieg der Impulsrate über der Milz ist wesentlich steiler als der über den übrigen Organen, deren Aktivitätskurven nahezu parallel verlaufen. Die Identität der Herz- und Leber-Kurve mit der des Knochenmarks (Kreuzbein) zeigt den Einfluss der Rippen auf die Messung dieser Organe.

Bei der Betrachtung des ^{59}Fe-Aktivitätskurve fällt zunächst der Inkorporationsgipfel des Knochenmarks ins Auge. Sein Anstieg entspricht der ^{59}Fe-Aufnahme des labilen Eisen-Pools und dann der Erythroblasten. Sein Abfall geht komplementär zum Anstieg der Aktivität in den Erythrozyten (Utilisationskurve).

An diesem Fall kann nun ein relativ seltenes Phänomen beobachtet werden. Die Utilisationskurve zeigt in ihrem Verlauf eine deutliche Senke, deren tiefster Punkt ungefähr beim 11. Tag nach ^{59}Fe-Injektion liegt. Das deutet darauf hin, dass zu diesem Zeitpunkt die erste Generation der kurzlebigen Erythrozyten das Ende ihrer Lebenszeit erreicht hat und eine zweite Utilisation erfolgt. Da die max. Utilisation stark verringert ist, verrät sich die Reutilisation durch eine Senke in der Utilisationskurve. Diese Annahme wird durch die Beobachtung gestützt, dass die ^{59}Fe-Aktivität über dem Knochenmark am 13. Tag einen zweiten Inkorporationsgipfel zeigt, der natürlich nicht mehr die Höhe des

ersten erreicht. Der zum Knochenmark weitgehend parallele Verlauf der Herzkurve rührt wieder vom Einfluss der Rippen her.

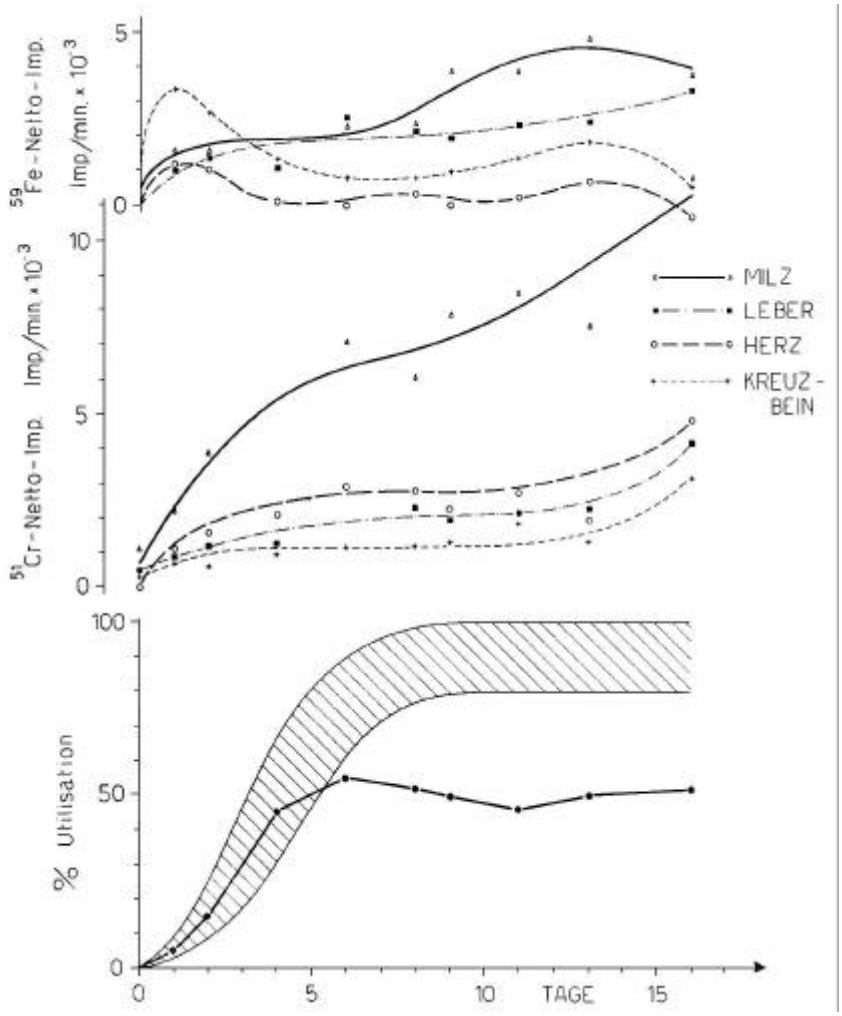

ABB. 20

Verlauf der ^{59}Fe- und ^{51}Cr-Netto-Aktivität über Knochenmark (os sacrum), Leber, Milz und Herz und Utilisationskurve des Patienten He. Diagnose: Fam. hämolytischer Ikterus. U_{max} = 50 %. Normbereich schraffiert.

Zieht man von der Milz- und der Leber-Kurve die Herzkurve ab, so bleibt ein Anstieg über beiden Organen, wobei die Milzkurve etwas stärker als die Leber-Kurve ansteigt. Da hier die

erythroklastische Tätigkeit der Milz das Krankheitsbild beherrscht, wurde von erythrokinetischer Seite die Splenektomie als erfolgversprechende symptomatische Therapie befürwortet.

STRAHLENDOSIMETRISCHER ANHANG

Da die maximal zulässige Menge von ^{51}Cr im menschlichen Körper nach dem I.C.R.P.-Bericht von 1955 600 µC bei *kontinuierlicher* Exposition beträgt (VETTER und VEALL [196]), ist die Anwendung der kleinen Menge von 25 µC bei der Blutvolumen-Bestimmung, aber auch von 100 µC zur Ermittlung der ^{51}Cr-.Ery-Vita, relativ unbedenklich. Auch wiederholte Blutvolumen-Bestimmungen in kurzen Abständen sind ohne jede Gefährdung des Patienten möglich.

Etwas kritischer ist die Anwendung von ^{59}Fe. Seine zulässige Gesamtkörperkonzentration bei kontinuierlicher Exposition beträgt 13 µC. Bei Anwendung von 20 µC dürfte aber die Gesamtdosis 1,5 rad (über 9 Wochen verteilt) nicht überschreiten (VETTER und VEALL [196]).

Bei einer erythrokinetischen Untersuchung wird man dieselben Kriterien anlegen wie bei einer diagnostischen Applikation von Röntgen-Strahlen im Abdominalbereich. Vor allem wir man bei weiblichen Personen im fortpflanzungsfähigen Alter immer eine mögliche Schwangerschaft vor Beginn der Untersuchung ausschliessen.

DANKSAGUNG

Herrn Prof. Dr. Dr. E. H. GRAUL danke ich für die Überlassung des Themas und Förderung der Arbeit und Herrn Doz. Dr. H. HUNDESHAGEN für seine Unterstützung. Die klinische Anwendung der geschilderten Methoden erfolgte gemeinsam mit den Herren Prof. Dr. H. E. BOCK und Doz. Dr. H. NIETH (Medizinische Universitätsklinik Marburg; Direktor: Prof. Dr. H. E. BOCK), für deren Unterstützung und Anregungen ich zu Dank verpflichtet bin.

ZUSAMMENFASSUNG

Ziel der Arbeit ist es, die erythrokinetische Untersuchung mit ^{51}Cr und ^{59}Fe zu einer Routine-Methode zu vereinfachen, die grösstmögliche Informationen liefert. Dabei wurden folgende neue Methoden entwickelt:

1. Eine Blutvolumen-Bestimmungsschnellmethode mit ^{51}Cr-Erythrozyten auf Ionenaustauscher-Basis gestattet die Verwendung patienteneigener Erythrozyten und benötigt von der Entnahme bis zur Reinjektion des Blutes ca. 10 Minuten.

2. Die langsame Ratenkonstante und die sehr niedrige spezifische Aktivität des Plasmaeisens einige Tage nach ^{59}Fe-Injektion werden im 24-Stunden-Sammelurin nach i.V.-Injektion eines eiseneliminierenden Präparates (Desferrioxamin) gemessen.

3. Eine Gleichung, die die Utilisationskurve optimal beschreibt, gestattet nicht nur die Ermittlung der üblichen Ratenkonstanten, sondern erstmalig die Bestimmung des Erythroblasten-Eisen-Pools mit einer Routinemethode. Sie ermöglicht mit der ^{51}Cr-Ery-Vita die Auswertung älterer Untersuchungen nach den neuen Gesichtspunkten. Pathologische Abweichungen des Eisenstoffwechsels werden durch entsprechende Gleichungen berücksichtigt.

4. Durch Verbesserung der Messmethodik können wir uns meist mit einer Blutentnahme von jeweils nur 0,1 ml begnügen.

LITERATUR

1) ASHBY W. – *The span of life of the red blood cells. A résumé.* - Blood, 3: 486, 1948.
2) ASHBY W. – *The determination of the length of life of transfused blood corpuscles in man.* – J. Exp. Med., 29: 267, 1919.
3) AUST J. B., CHOU S., MARVIN J. F., BRACKNEY E. L. and MOORE G. E. – *A rapid method for clinical total blood volume determination using radioactive iodinated human serum albumin.* – Proc. Soc. Exp. Bio. & Med., 77: 514, 1951.
4) AUSTONI M. – Diskussionsbemerkung zu: Keiderling et al. [125] in: *Radioaktive Isotope in Klinik und Forschung*, Band 2. Urban & Schwarzenberg, S. 38, 1956.
5) AUSTONI M., MASETTO I., SCANDELLARI C., BERTIN G. – *La ferrocinetica nelle sindromi osteomieosclerotiche.*- Rivista Anatomia Patol. e di Oncologica, XV: 1959.
6) BARTOLOMEI G., BIANCHI R. – *La determinazione del volume plasmatico e del volume di sangue circolante in soggetti normali mediante con sieroalbumina umana radiojodata.* – Minerva Nucleare, 1: 3, 1957.
7) BAPTISTA A. M., FERNANDEZ M. A., DRETO P. V. and BRANCO F. – *In vivo measurements of radioiron in the study of some hemolytic anemia.* – Radioaktive Isotope in Klinik und Forschung, Band 4, Urban & Schwarzenberg, S. 142, 1959.
8) BELCHER E. H., GILBERT I. G. F. AND LAMERTON L. F. – *Experimental studies with radioactive iron.* – Brit. J. Radiol., 27: 387, 1954.
9) BERLIN N. I., HYDE G. M., PARSONS R. J. and LAWRENCE J. – *The blood volume in various medical and surgical conditions.* – New England J. Med., 247: 675, 1952
10) BERLIN N. I., HYDE G. M., PARSONS R. J. and PORT S. – *The blood volume of the normal female as determines with ^{32}P-labeled red blood cells.* – Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 76, 831, 1951
11) BERLIN N. I., LAWRENCE J. H. and GARTLAND J. – *Blood volume in chronic leukemia as determined by ^{32}P-labeled red blood cells.* – J. Lab. and Clin. Med., 36: 435, 1950.
12) BERLIN N. I., LAWRENCE J. H. and LEE H. C. – *The pathogenesis of the anemia of chronic leukemia: Measurements of the life span of the red blood cells with glycine-2-^{14}C.* – J. Lab. and Clin. Med., 44: 860, 1954.
13) BERLIN N. I., ROWLES D. F., HYDE G. M., PARSONS R. J., SAMPSON P. C. and PORT S. - *Blood volume and blood turnover in thoracic surgery as*

determined by ^{32}P labeled red blood cells. – Surg. Gynec. and Obstet., 92: 7612, 1951.

14) BERSON S. A. and YALOW R. S. - *The use of ^{42}K or ^{32}P labeled erythrocytes and ^{131}I tagged human serum albumin in simultaneous blood volume determinations.* – J. Clin. Invest., 31: 572, 1951.

15) BERSON S. A., YALOW R. S., SCHREIBER S. S. and POST J. – *Tracer experiments with ^{131}I labeled human serum albumin: Distribution and degradations studies.* – J. Clin. Invest., 32: 746, 1953.

16) BESSIS M. – *Etude an microsope électronique du rôle de la ferritine dans le cycle hémoglobinique du fer.* – In: *Der Eisenstoffwechsel,* Thieme, S. 11, 1959.

17) BESSIS M. et BRETON-GORIUS J. – *Etude an microsope électronique des granulations ferruginenses des érythrocytes normaux et pathologiques. Anémies hémolytiques. Hémoglobinopathies. Saturnisme.* – Rev. Hémat., 12: 43, 1957.

18) BOCK H. E., BÖTTNER H. und SCHLEGEL B. – *Die Lebensdauer übertragener Erythrozyten bei Nierenkranken. Ein Beitrag zur Pathogenese der nephrogenen Anämien.* – Z. ges. exp. Med., 118: 459, 1952.

19) BOCK H. E., GRAUL E. H., GELINSKY P., HUNDESHAGEN H., KAUFMANN W., KLINKE H. und NIETH H. – *Blutvolumen- und Erythrozyten-Überlebenszeitbestimmungen mit Hilfe von ^{51}Cr-markierten Erythrozyten.* – Strahlentherapie, 115: 163, 1961.

20) BOCK H. E., GRAUL E. H., GELINSKY P., HUNDESHAGEN H., KUNI H. und NIETH H. – *Radioisotopen-Diagnostik mit ^{51}Cr und ^{59}Fe bei nephrogenen und rheumatischen Anämien.* – Nuklearmedizin, Suppl. 1, Vol. II: 141, 1963.

21) BOCK H. E., NIETH H. und SOLTH K. – *Anämie bei Niereninsuffiziens.* – Dtsch. Med. Wschr., 87: 573, 1962.

22) BORUN E. F., FIGUERROA W. G. and PERRY M. – *The distribution of ^{59}Fe tagged human erythrocytes in centrifuged specimens as a function of cell age.* – J. Clin. Invest., 36: 676, 1957.

23) BOTHWELL T. H., CALLENDER S., MALLETT B. and WITTS L. J., - *The study of erythropoiesis using tracer quantities of radioactive iron.* – Brit. J. Haematol., 2: 1, 1956.

24) BOTHWELL T. H., HURTADO A. V., DONOHUE D. M. and FINCH C. A. – *Erythrokinetics.* IV: *The plasma iron turnover as a measure of erythropoiesis.* – Blood, 12: 409, 1957.

25) BOTHWELL T. H. and MALLETT B. – *Diurnal variation in the turnover of iron through the plasma.* – Clin. Sc., 14: 235, 1955.

26) BRAGANÇA-GIL F. M., CAVÃO GOMES F. A. – *Experimental remarks on the application of ^{51}Cr to the study of human erythrocytes.* – 2nd U.N. Int. Conf. of the Peaceful Uses of Atomic Energy A-Conf. 15/P/1823.

27) BRANTE G. – Radiokrom I *Blodstudier.* I: *Metodik för bestämming av blod kroppsvolym och erythrocytoverlevnadstid.* – Särtryckur Nordisk Medicin, 55: 119, 1956.

28) BUSH J. A., ASHENBRUCKER H., CARTWRIGHT G. E. and WINTROBE M. J. – *The anemia of infection. X: The kinetics of iron metabolism in the anemia associated with chronic infection.* – J. Clin. Invest., 35: 89, 1956.

29) BUSH J. A. and CARTWRIGHT G. E. – *Ferrokinetics in anemia of infection.* – J. Clin. Invest., 33: 921, 1954.

30) CHAPIN M. A. and ROSS J. F. – *The determination of the true cell volume by dye dilution, by protein dilution and with radioactive iron. The error of the centrifuge hematocrit.* – Am. J. Physiol., 137: 447, 1942.
31) CHAPLIN H. Jr. and MOLLISON P. – *Correction for plasma trapped in the red cell volume of the hematocrit.* – Blood 7: 1227, 1952.
32) CHAPLIN H. Jr. and MOLLISON P. – *Red cell life-span in nephritis and in hepatic cirrhosis.* – Clin. Sc., 12: 351, 1953.
33) CHAPLIN H. Jr., MOLLISON P. and VETTER H. – *The body venous hematocrit ratio: Its constancy over a wide hematocrit range.* – J. Clin. Invest., 32: 109, 1953
34) COOPER M., STROEBEL C. F., STICKNEY J. and OWEN C. A. Jr. – *Radiochromium in study of red cell survival and gastro-intestinal bleeding.* – Fed. Proc., 14: 31, 1955
35) CRAWFORD H. and DE GRUCHY G. C. – *The use of radioactive Chromium (^{51}Cr) in clinical medicine.* – Med. J. of Australia, 657, 1958.
36) CRISPELL K. P., PORTER B. and NIESET R. T. – *Studies of plasma volume using human serum albumin tagged with radioactive iodine.* – J. Clin. Invest., 29: 513, 1950.
37) CROOK A. and SAZUR L. – *A simple method for the in vivo discrimination of chromium 51 and iron 59.* – Brit. J. Radiol., 33: 447, 1960.
38) DONOHUE D. M., MOTULSKY A. G., GIBLETT E. R., PIRZIO-BIROLI G., VIRANUVATTI V. and FINCH C. A. – *The use of chromium as a red cell tag.* – Brit. J. Haemat., 1: 249, 1955.
39) DORNHOST A. C. – *Analytical review. The interpretation of red cell survival curves.* – Blood 6: 1284, 1951.
40) DREYFUS J. C., SHAPIRA G. et KRUH J. – *Fractionnement des hématies selon leur âge. Centrifugation d'hématies marquées par le fer radioactif.* – Compt. rend. Soc. de Biol., 144: 792, 1950.
41) DUBACH R., MOORE C. V. and MINNICH V. – *Studies in iron transportation and metabolism.* – J. Lab. Clin. Med., 31: 1201, 1946.
42) EADIE G. S. and BROWN I. W. Jr. – *The potential life span and ultimate survival of fresh red blood cells in normal healthy recipients as studied by simultaneous ^{51}Cr tagging and differential hemolysis.* – J. Clin. Invest., 34: 629, 1955.
43) EADIE G. S. and BROWN I. W. Jr. – *Analytical review. Red blood cell survival studies.* – Blood, 8: 1110, 1953.
44) EBAUGH F. G., EMERSON C. P. and RODNAN G. – *An evaluation of $Na_2{}^{51}CrO_4$ as an agent for the determination of the erythrocyte life span in vivo in various hemolytic states.* – J. Clin. Invest., 34: 931, 1955.
45) EBAUGH F. G., EMERSON C. P. and RODNAN G. – *The use of radioactive chromium 51 as an erythrocyte tagging agent for determination of the red cell survival in vivo.* – J. Clin. Invest., 32: 1260, 1953.
46) EBAUGH F. G., EMERSON C. P. and RODNAN G. – *The use of ^{51}Cr as erythrocyte tagging agent for determination of the red cell survival in vivo.* – J. Clin. Invest., 33: 1225, 1954.
47) EERNISSE J. G. and ROOD J. J. van – *Erythrocyte survival-time determinations with the aid of DF32P.* – Brit. J. Haemat., 7: 382, 1961.
48) EGGSTEIN M. und HUNDESHAGEN H. – *Beitrag zur Methodik der Papierelektrophorese.* – Klin. Wschr., 33: 14, 1955.

49) ELMINGER P. J., HUFF R. L., TOBIAS C. A. and LAWRENCE J. H. – *Iron turnover abnormalities in patients having anemia: Serial blood and in vivo tissue studies with 59Fe.* – Acta Haemat., 9: 73, 1953.

50) ELMINGER P. J., MASOUREDIS S., SONI J., FULTON G., and BELKNAP S. L. – *Plasma mixing and removal curves for ^{59}Fe and ^{131}I after intravenous injection of doubly labeled iron binding globulin.* (Abstract). – J. Clin. Invest., 33: 930, 1954.

51) ERICKSON J. R., MCCORMICK J. B. and SEED L. – *An improved method for the determination of blood volume using radioactive iodinated human serum albumin.* – Science, 118: 595, 1953.

52) EVANS R. L. and AMATU ZIO D. S. – *Red cell survival studies and Ashby-curves.* – Nature, 171: 798, 1953.

53) EVANS R. L., AMATU ZIO D. S. and EBERT E. V. – *Red blood cell studies, Ashby-curves.* – Science, 115: 572, 1952.

54) FELLINGER K., GISINGER E. und VETTER H.. – *Der Stoffwechsel 59Fe-markierten, kolloidalen Eisensaccharates beim Menschen.* – In: *Radioaktive Isotope in Klinik und Forschung,* Band 2, Urban & Schwarzenberg, S. 13, 1956.

55) FIELDS T., KAPLAN E. and TERRIL M. – *A simplified method for blood volume determinations using ^{131}I-HAS. J.* Lab. Clin. Med., 43:322, 1954.

56) FINCH C. A. – *Plasma iron turnover.* – In: *Der Eisenstoffwechsel,* Thieme, S. 141, 1959.

57) FINCH C. A., GIBSON II. J. G., PEACOCK W. C. and FLUHARTY R. G. – *Iron metabolism. Utilisation of intravenous radioactive iron.* – Blood, 4: 905, 1949.

58) FINCH C. A., HEGSTED M., KINNEY T. D., THOMAS E. D., RATH C. E., HASKINS D., FINCH S. and FLUHARTY R. G. – *Iron metabolism. The pathophysiology of iron storage.* – Blood, 5: 983, 1950.

59) FINCH C. A., WOLFF J. A., RATH C. E. and FLUHARTY R. G. – *Iron metabolism; erythrocyte iron turnover.*- J. Lab. Clin. Med., 43: 1480, 1949.

60) FINCH S. C. and ROSS F. J. – *The significance of plasma iron turnover.* – J. Clin. Invest., 31: 627, 1952.

61) FRANK H. S. J. and GRAY S. J. – *Determination of plasma volume with $^{51}CrCl_3$.* – J. Clin. Invest., 32: 991, 1953.

62) FRIENKEL N., SCHREINER G. E. and ATHENS J. W. – *Simultaneous distribution of T-1824 and ^{131}I-labeled human serum albumin in man.* – J. Clin-Invest., 32: 138, 1953.

63) GARBY L. and NOYES W. D. – *Studies on hemoglobin metabolism. 1: The kinetic properties of the plasma hemoglobin pool in normal man.* – J. Clin. Invest., 38: 1479, 1959.

64) GARBY L. and NOYES W. D. – *Studies on hemoglobin metabolism. 2: Pathways of hemoglobin pool iron metabolism in normal man.* – J. Clin. Invest., 38: 1484, 1959.

65) GEHRMANN G. – *Untersuchungen mit radioaktivem Chrom bei hämolytischen Anämien.* – Dtsch. Med. Wschr., 85: 1097, 1960.

66) GIBLETT E. R., COLEMAN D. H., PIRZIO PIROLI G., DONOHUE D. M., MOTULSKY A. G. and FINCH C. A. – *Erythrokinetics: Quantitative measurements of red cell production and destruction in normal subjects and patients with anemia.* – Blood, 11: 291, 19856.

67) GIBSON J. G. II. and EVANS W. Jr. – *Clinical studies of the blood volume. II:*

The relation of plasma and total blood volume to venous pressure, blood velocity rate, physical measurements, age and sex in ninety normal humans. – J. Clin. Invest., 16: 317, 1937.

68) GIBSON J. G. II., EVANS R. D., Aub, J. C., Sack T. and Peacock W. C. – *The post-transfusion survival of preserved human erythrocytes stored in whole blood or in resuspension, after removal of plasma, my means of two isotopes of radioactive iron.* – J. Clin. Invest., 17: 153, 1938.

69) GIBSON J. G. II., PEACOCK W. C., SELIGMAN A. M. AND SACK T. – *Circulating red cell volume measured simultaneously by radioactive iron and dye methods.* – J. Clin. Invest. 25: 838, 1946.

70) GIBSON J. G. II., WEISS S., EVANS R. D., PEACOCK W. C., IRVINE J. W. JR., GODD W. M. and Kip A. F. – *The measurements of the circulating red cell volume by means of two radioactive isotopes of iron.* – J. Clin. Invest., 25: 616, 1946.

71) GITLIN D. – *Distribution-dynamics of circulating and extra-vascular ^{131}J plasma proteins.* – Ann. N. Y. Acam. Sc., 70: 122, 1957.

72) GRANICK S. – *Iron metabolism.* – Bull. N. Y. Acad. Med., 30: 81, 1954.

73) GRANICK S. – *Structure and physiological functions of ferritin.* – Physiol. Rev. 31: 489, 1951.

74) GRANICK S. – *Ferritin; its properties and significance for iron metabolism.* – Chem. Rev., 38: 379, 1946.

75) GRAUL E. H. und HESS F. – *Ergebnisse des VII. internationalen Kongresses für Radiologie in Kopenhagen 1953 aus dem Gebiet der Strahlenheilkunde*. Urban & Schwarzenberg, 1955.

76a) GRAUL E. H. und HUNDESHAGEN H. – *Zur Methodik des Autoradiographischen Nachweisverfahrens.* – Zschr. f. Naturforschung., 12b: 534, 1957.

76b) GRAUL E. H. und HUNDESHAGEN H. – *Quantitative und qualitative Autoradiographie und Beurteilung ihrer Leistungsfähigkeit.* – Strahlentherapie, 106: 397, 1958.

77) GRAY S. F. and FRANK E- - *The simultaneous determination of red cell mass and plasma volume in man with radioactive sodium chromate and chromic chloride.* – J. Clin. Invest., 32: 1000, 1953.

78) GRAY S. F. and STERLING K. - *The tagging red cells and plasma proteins with radioactive chromium.* – J. Clin. Invest., 29: 1604, 1950.

79) GRAY S. F. and STERLING K. – *Determination of circulating red cell volume by radioactive chromium.* – Science, 112: 179, 1950.

80) GREENBERG G. R. and WINTROBE M. – *A labile iron pool.* – J. Biol. Chem., 165: 397, 1946.

81) GREGERSEN M. J. – *Effect of circulating states on determination of blood volume.* – Am. J. Med., 15: 785, 1953.

82) GREGERSEN M. J. and NICKERSON J. – *Relation of blood volume and cardiac output to body type.* – J. Applied Physiol., 3: 329, 1950.

83) GREGERSEN M. J. and RAWSON R. A. – *The disappearance of T-1824 and structurally related dyes from the blood stream.* – Am. J. Physiol., 138: 698, 1942.

84) GUBLER C. J. – *Absorption and metabolism of iron.* – Science, 123: 87, 1956.

85) GUNTON R. W. and PAUL W. – *Blood volume in congestive heart failure.* – J. Clin. Invest., 34: 379, 1955.

86) HAHN P. F. – *Metabolism of iron.* – Fed. Proc., 7: 493, 1948.
87) HAHN P. F., BALE, W. F., HETTIG R. A., KAMEN M. D. and WHIPPLE G. H. – *Radioactive iron and its excretion in urine, bile and faeces.* – J. Exp. Med., 70: 332, 1939.
88) HAHN P. F., BALE, W. F., LAWRENCE E. and WHIPPLE G. H. – *Radioactive iron and its metabolism in anemia.* – J. Exp. Med., 69: 739, 1939.
89) HAHN P. F., BALE, W. F., ROSS J. A., HETTIG R. A., and WHIPPLE G. H. – *Radioiron in plasma does not exchange with hemoglobin iron in red cells.* – Science, 92: 131, 1940.
90) HAHN P. F., BALFOUR W. M., ROSS, J. A., BALE W. F. and WHIPPLE G. H. – *Red cell volume, circulating and total, as determined by radioiron.* - Science, 93: 87, 1941.
91) HAHN P. F., GRANICK S., BALE, W. F. and MICHAELIS L. – *Ferritin; VI: Conversion of inorganic and hemoglobin iron into ferritin iron in the animal body. Storage function of ferritin iron as shown by radioactive and magnetic measurements.* – J. Biol. Chem., 150: 407, 1943.
92) HAHN P. F., ROSS J. A., BALE, W. F., BALFOUR W. M. and WHIPPLE G. H. – *Red cell and plasma volume (circulating and total) as determined by radioiron and by dye.* – J. Exp. Med., 75: 221, 1942.
93) HAMILTON C. D., GUBLER C. J., CARTWRIGHT G. E. and WINTROBE A. – *Diurnal variation in the plasma iron level in man.* – Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 75: 65, 1950.
94) HANSEN H. A. and WEINFELD A. – *Hemosiderin estimations and sideroblast counts in the differential diagnosis of iron deficiency and other anemias.* – Acta Med. Scand., 165: 333, 1959.
95) HARRIS A. W. and GIBSON J. G. H. – *Clinical studies of the blood volume. VII: Changes in blood volume in Bright's disease with or without edema, renal insufficiency or congestive heart failure and in hypertension.* – J. Clin. Invest., 18: 527, 1939.
96) HASKINS D., STEVENS A. P. JR., FINCH S. and FINCH C. A. – *Iron metabolism. Iron stores in mans measured by phlebotomy.* – J. Clin. Invest., 31: 543, 1952.
97) HEDLUND S. – *Studies on erythropoiesis and total red cell volume in congestive heart failure.* – Acta Med. Scand., Suppl., 284: 1, 1953.
98) HEILMEYER L. – *Ferritin.* – In: *Iron in Clinical Medicine*, p. 24., 1958.
99) HEILMEYER L. und WEISSBECKER L. – *Funktion und Stoffwechsel der Schwermetalle.* – In: BÜCHNER F., LETTERER E. und ROULET F., *Handbuch der Allg. Pathologie*, Springer, 1957, Band 4, Teil 2, S. 1
100) HEMMELER G. – *Les oscillations du fer serique la journe.* – Helv. Med. Acta, 11: 201, 1944.
101) HEVESY G. v. – *Isotope als Indikatoren in der physiologischen Forschung.* – Doc. rheumatologica, 6: 5, 1955.
102) HEVESY G. v., KÖSTER K. H., SORENSEN G., WARBURG E. and ZEHRAN K. – *The red cell corpuscle content of the circulating blood determined by labelling the erythrocytes with radiophosphorus.* – Acta Med. Scand., 116: 561, 1944.
103) HEVESY G. v. and NYLIN G. – *Application of « Thorium B » labeled red blood volume studies.* Circulation Res., 1: 102, 1953.
104) HEVESY G. v. and NYLIN G. – *Application of ^{42}K labeled red corpuscles in*

blood volume measurements. – Acta physiol. Scand., 24: 285, 1951.
105) HEVESY G. v. and ZERAHN K. – *Determination of the blood corpuscle content.* – Acta physiol. Scand., 4: 276, 1942.
106) HLAD C. J. Jr. and TANZ R. - *An analysis of technical errors in radioalbumin blood volume methods and presentation of a modified method.* – J. Lab. Clin. Med., 52: 289, 1958.
107) HORST W. and VILLANUEVA-MEYER H. – *A radioiron study technique for the differential diagnosis of hematological disorders.* – Medicamundi, 2: 1956.
108) HORST W. and VILLANUEVA-MEYER H. – *Ein neues Radioisotopenumsatzstudium zur klinischen Diagnostik des Eisen-Stoffwechsels.* – Strahlentherapie, 102: 398, 1957.
109) HØYER, R. – *Physiological variations in the iron content of human blood serum. I: The variations from week to week, from day to day and through twenty-four hours.* – Acta med. Scand., 119: 562, 1944.
110) HUFF R. L., ELMINGER P. J., GARCIA J. F., ODA J., COCKRELL M. C. and LAWRENCE J. H. – *Ferrokinetics in normal persons and in patients having various erythropoietic disorders.* – J. Clin. Invest., 30: 1512, 1951.
111) HUFF R. L. and FELLER D. D. – *Relation of circulating red cell volume to body density and obesity.* – J. Clin. Invest., 35: 1, 1956.
112) HUFF R. L., HENNESY T. G., AUSTIN R. E., GARCIA J. F., ROBERTS B . M. and LAWRENCE J. H. – *Plasma and red cell iron turnover in normal subjects and in patients having various hemapoietic disorders.* – J. Clin. Invest., 29: 1041, 1950.
113) HUFF R. L. and JUDD C. J. – *Kinetics of iron metabolism.* – Adv. Biol. & Med. Phys., 4: 223, 1956.
114) HUFF R. L., THOMAS C. A. and LAWRENCE J. H. – *A test for red cell production.* – Acta hematol., 7: 129, 1952.
115) HUGHES JONES N. C. and MOLLISON P. L. – *Interpretation of 51Cr survival curves.* – Clin. Sc., 15: 207, 1956.
116) HURLEY T. and WEISMAN R. Jr. – *The determination of the survival of transfused red cells by a method of differential hemolysis.* – J. Clin. Invest., 33: 835, 1954.
117) HYMAN G. A., GELLHORN A. and HARVEY J. – *Studies of the anemia of disseminated malignant neoplastic disease. II: Study of the life span of the erythrocyte.* – Blood, IX: 618, 1956.
118) JANDL J. H., GREENBERG M. S., YONEMOTO R. H. and CASTLE W. – *Clinical determinations of the sites of red cell sequestration in hemolytic anemias.* – J. Clin. Invest., 35: 842, 1956.
119) JANDL J. H., INMAN J. K., SOMMONS R. L. and ALLEN D. W. – *Transfer of iron from serum ironbinding-protein to human reticulocytes.* – J. Clin. Invest., 38: 161, 1959.
120) JOSKE R. A., MCALISTER J. M. and PRANKED T. A. J. – *Isotope investigations of red cell production and destruction in chronic renal disease.* – Clin. Sc., 15: 511, 1956.
121) KATZ J. H. – *Iron and protein kinetics studied by means of doubly labelled human crystalline transferrin.* – J. Clin. Invest., 40: 2143, 1961.
122) KATZ J. H. – *Iron and protein kinetics studied by means of doubly-labeled human crystalline transferrin.* (Abstract). – J. Clin. Invest., 40: 1053, 1961.

123) KEIDERLING W. und FRANK K. TH. – *Tierexperimentelle Untersuchungen über die Beziehung zwischen Erythrozyten-Lebenszeit und Schilddrüsenfunktion unter Benutzung der Radiochrom-Methode.* – Klin. Wschr., 379, 1960.

124) KEIDERLING W. und SCHMIDT H. A. E. – *Die infektiöse und neoplastische Eisenstoffwechselstörung.* – In: *Eisenstoffwechsel,* Thieme, S. 155.

125) KEIDERLING W., SCHMIDT H. A. E. und LEB. M. – *Untersuchungen über die Dynamik des Erythrozytenumsatzes mit Radioeisen (59Fe) und Radiochrom (51Cr).* In: *Radioaktive Isotope in Klinik und Forschung.* Band 2, Urban & Schwarzenberg, 1956, S. 24.

126) KOECHLIN B. A. – *Preparation and properties of serum and plasma proteins. XXVIIII: The ß1-metall-combining protein of human plasma.* – J. Am. Chem. Soc., 74: 2649, 1952.

127) KORMAN S. – *Iron metabolism in man.* – Ann. N. Y. Acad. Sc., 88: 460, 1960.

128) LAURELL C. B. – *Serumproteine und Eisentransport.* – In: *Eisenstoffwechsel,* Thieme, 1959, S. !03.

129) LAURELL C. B. – *Iron transportation.* – In: *Iron in Clinical Medicine,* 1958, p. 8.

130) LAURELL C. B. – *The diurnal variation in the serum iron concentration.* – In: Scan. J. Clin. & Lab. Invest., 5: 118, 1953.

131) LAURELL C. B. – *What is the function of transferrin in plasma?* – Blood, 6: 183, 1951.

132) LAURELL C. B. – *Studies on the transportation. and metabolism of iron in the body with special reference to the iron binding component in human plasma.* – Acta physiol. Scand., Suppl., 14: 46, 1947.

133) LOEFFLER R. K., RAPPOPORT D. A. and COLLINS V. P. – *Radioiron citrate as tracer to determine disappearance rate of plasma iron in normal subjects.* – Proc. Soc. Exp. Exp. Biol. Med., 88: 441, 1955.

134) LONDON J. M., SHEMIN M., WEST R. and RITTENBERG D. – *Heme synthesis and red blood cell dynamics in normal humans and in subjects with polycythemia vera, sickle cell anemia and pernicious anemia.* – J. Biol. Chem., 179: 463, 1949.

135) LOUTIT J. E. – *Discussion of the life and death of red blood corpuscle.* – Proc. Roy. Soc. Med., 39: 757, 1946.

136) MAZUR A., GREEN S. and CARLETON A. – *Mechanism of plasma iron incorporation into hepatic ferritin.* – J. Biol. Chem., 235: 595, 1960.

137) MCCOMBS R. K. and LAWRENCE J. – *Radioisotopes in hematology.* – Donner Lab. Biophys. & Med. Phys. Univ. California, Berkeley, Cf. 1955.

138) MCFARLANE A. S. – *Labelling of plasma proteins with radioactive iodine.* – Biochem. J., 62: 135, 1956.

139) MENEELY G.. R., WELLS E. B. and HAHN P. F. – *Application of the radioactive red cell method for the determination of blood volume in human.* – Am. J. Physiol., 148: 531, 1947.

140) MILLS J. N. – *The life span of the erythrocyte.* – J. Physiol. 105: 16, 1946.

141) MOLLISON P. L., ROBINSON M. and HUNTER D. – *Improved method for labelling red cells with radioactive phosphorus.* – Lancet, 1: 766, 1958.

142) MOLLISON P. L. and VEALL N. – *The use of isotope 51Cr as a label for red cells.* – Brit. J. Haemat., 1: 62, 1955.

143) MOORE C. V. and DUBACH B. – *Physiology of iron metabolism, resorption, conservation, elimination, and physiological iron losses.* – In: *Der Eisenstoffwechsel*, Thieme, 1959, S. 112.

144) NACHMANN H. M., JAMES G. W. III., MOORE J. W. and EVANS E. I. – *A comparative study of red cell volumes in human subjects with radioactive phosphorus tagged red cells and T-1824 dye.* – J. Clin. Invest., 29: 258, 1950.

145) NEALE F. C. – *The demonstration of the iron-binding globulin (transferrin) in serum and urine by use of 59Fe combined with paper electrophoresis.* – J. Clin. Path., 8: 334, 1955.

146) NECHELES T. F., WEINSTEIN I. M. and LE ROY G. V. – *Radioactive sodium chromate for the study of survival of red blood cells. I: The effect of radioactive sodium chromate on red cells.* – J. Lab. & Clin. Med., 42: 358, 1953.

147) NOBLE R. P. and GREGERSON M. I. – *Blood volume in clinical shock. I: Mixing time and disappearance rate of T-1824 in normal subjects and in patients in shock.* – J. Clin. Invest.,. 25: 158, 1946.

148) NOMOF N., HOPPER J. JR., BROWN E., SCOTT K. and WENNESLAND R. – *Simultaneous determinations of the total volume of red blood cells of carbon monoxide and chromium 51 in healthy and diseased human subjects.* – J. Clin. Invest., 33: 1382, 1954.

149) OWEN C. A., BOLLMAN J. L. and GRINDLAY J. – *Radiochromium labeled erythrocytes for the detection of gastro-intestinal hemorrhage.* – J. Lab. & Clin. Med., 44: 238, 1954.

150) PERERA P. A. – *The effect of significant weight change on the predicted plasma volume.* – J. Clin. Invest., 25: 401, 1946.

151) PIETRANTONI F. (DI), TIZIANELLO A. – *Ricerche sulla eluzione del cromo 51 dai globuli rossi.* – Minerva nucleare, III: 36, 1959.

152) PIHA R. S. – *The use of 14C-algal-protein as a labelling agent for determining the life span of erythrocytes.* – Biochem. J., 58: XLVI, 1954.

153) POLLYCOVE M. – *Ferrokinetics: Techniques.* – In: *Eisenstoffwechsel*, Thieme, 1959, S. 20.

154) POLLYCOVE M. – *Iron metabolism.* – In: *Thannhausers Lehrbuch des Stoffwechsels und der Stoffwechselkrankheiten*, 2. Aufl., Thieme, 1957, S. 835.

155) POLLYCOVE M., ELMINGER P. J., SARVES L. A., APT L. and ROSS J. F. – *Radioiron determination of human erythrocyte life-span distribution.* - Clin. Res. Proc., 4: 79, 1956.

156) POLLYCOVE M. and MORTIMER R. – *The quantitative determination of individual iron kinetics and hemoglobin formation in human subjects.* (Abstract). – Clin. Res. Proc., 4: 51, 1956.

157) POLLYCOVE M. and MORTIMER R. – *The quantitative determination of iron kinetics and hemoglobin synthesis in human subjects.* – J. Clin. Invest., 40: 753, 1961.

158) PRENTICE T. C. – *Studies of blood volume and transfusion therapy in the Korean Battle casualty.* – Surg., Gyn. & Obstet., 99: 542, 1954.

159) PRICE P. B. and LONGMIRE W. P. – *The use of T-1824 in plasma volume determinations.* – Bull John Hopkins Hosp., 71: 51, 1942.

160) READ R. C. – *Studies of red cell volume and turnover using radiochromium. Description of a new « closed » method of red cell volume measurements.* –

New Engl. J. Med., 250: 1021, 1954.
161) READ R. C., WILSON G. W. and GARDNER F. H. – *The use of radioactive sodium chromate to evaluate the life span of red blood cell in health and certain hematological disorders.* – Am. J. Med. Sc., 228: 40, 1954.
162) REEVE E. B. and FRANKS J. J. – *Errors in plasma volume measurements from absorption losses of albumin-131I.* – Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 93: 299, 1956.
163) REEVE E. B. and VEALL N. – *A simplified method for the determination of circulating red cell volume with radioactive phosphorus.* – J. Physiol., 108: 12, 1949.
164) REILLY W. – *Whole blood volume determined by radiochromium tagged red cells.* – Circulation, 9: 571, 1954.
165) SCHADE A. L. and CAROLINE L. – *An iron-binding component in human blood plasma.* – Science 104: 340, 1946.
166) SCHMIDT H. A. E. – *Myoglobin und Myoglobineisen.* – In: *Der Eisenstoffwechsel*, Thieme, 1959, S. 46.
167) SCHMIDT H. A. E. – *Beispiele der diagnostischen Radioisotopenanwendung in der inneren Medizin.* – Ärztl. Mitt., 46: 25, 1961.
168) SCHMIDT H. A. E. und KEIDERLING W. – *Die Lebenszeit Cr-51-markierter Erythrozyten bei ikterischen Krankheitsbildern.* – Klin. Wschr., 37: 335, 1959.
169) SCHULTZ A. L., HAMMARSTEN J. F., HELLER B. I. and EBERT R. V. – *A critical comparison of the T-1824 dye and iodinated albumin method for plasma volume measurements.* – J. Clin. Invest., 32: 107, 1953.
170) SCHWAIGER M und SCHMEISER K. – *Zur Methodik der Blutvolumenbestimmung mit Radiophosphor (32P).* – Klin. Wschr., 29, 536, 1951.
171) SCHWICK G. – *Die Technik der Immunelektrophorese.* – Laboratoriumsblätter, 8: Nr. 1 S. 11, 1958.
172) SEED L., KAPLAN E. and EGGEN K. E. – *Blood volume studies with use of ^{131}I-tagged albumin.* – Am. Surg., 21: 533, 1955.
173) SHARNEY L., SCHWARTZ L., WASSERMANN K. R., PORT S. and LEAVITT D. – *Pool systems in iron metabolism: Special reference to polycythemia vera.* – Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 87: 489, 1955.
174) SHEMIN D. and RITTENBERG D. – *The life span of human red blood cell.* – J. Biol. Chem., 166: 627, 1946.
175) SHODEN A., GABRIO B. W. and FINCH C. A. – *The relationship between ferritin and hemosiderin in rabbits and man.* – J. Biol. Chem., 204: 823, 1953.
176) SMITH G. and KRIVIT W. – *Studies on the in vitro rate of chromium elution from red cells.* – Lab. Invest., 9: 404, 1960.
177) SMITH H. P., ARNOLD H. R. and WHIPPLE G. H. – *Blood volume studies; comparative values of Welcher, carbonmonoxide and dye method for blood volume determinations; Accurate determination of blood volumes.* – Am. J. Physiol., 56: 336, 1921.
178) SMOLIK E. A., MUETHER R. O., NASH F. P. and KONNEKER W. – *Radioisotopes in a simplified technique for accurate determination of blood volumes.* – Am. J. Physiol.. 26: 1127, 1956.
179) SONDHAUS, C. A. and THORELL B. – *Microspectrophotometric determination of nonheme iron in maturing erythroblasts and its relationship to the endocellular hemoglobin formation.* – Blood, 16: 1285, 1960.

180) STEINBECK A. W. – *The plasma volume in glomerulonephritis.* – Clin. Sc., 12: 327, 1953.

181) STEINER B. – *Iron metabolism of essential pulmonary hemosiderosis.* – In: *Der Eisenstoffwechsel,* Thieme, 1959, S: 245.

182) STERLING K. and GRAY S. J. – *Determination of the circulating red cell volume in man by radioactive chromium.* – J. Clin. Invest., 29: 1614, 1950.

183) STORAASLI J. P., KRIEGER H., FRIEDELL H. L. and HOLDEN W. – *The use of radioactive iodinated plasma protein in the study of blood volume.* – Surg., Gyn. & Obstet., 91: 458, 1950.

184) STRUMIA M. M., TAYLOR L., SAMPLE A. B., COLWELL L. S. and DUGAN A. – *Uses and limitations of survival studies of erythrocytes tagged with 51Cr.* – Blood, 10: 429, 1955.

185) SUIT H. D., LAJTHA L. G., OLIVER R. and ELLIS F. – *Studies on the 59Fe uptake by normoblasts and the failure of X-irradiation to affect uptake.* – Brit. J. Haemat., 3: 165, 1957.

186) SURGENOR D. M., KOECHLIN B. A. and STRONG L. E. – *Chemical, clinical and immunological Studies on the products of human plasma fractionation. XXXVII: The metalcombining-globulin of human plasma.* – J. Clin. Invest., 28: 73, 1949.

187) SUTHERLAND D. A. and MCCALL M. S. – *The measurement of the survival of human erythrocytes by in vivo tagging with 51Cr.* – Blood, 10: 646, 1955.

188) SUTHERLAND D. A., MCCALL M. S., GROVES M. T. and MUIRHEAD E. E. – *The survival of human erythrocytes estimated my means of cells tagged with radioactive chromium: Study of the normal state.* – J. Lab. & Clin. Med., 43: 717, 1954.

189) SUTHERLAND D. A., MCCALL M. S., JONES F. and MUIRHEAD R. E. – *The anemia of uremia, hemolytic state measured by the radiochromium method.* – Am. J. Med., 19: 153, 1955.

190) SUTHERLAND D. A., MITON P. and LANZ H. – *The life span of the rabbit erythrocyte.* – Acta Haemat., 21: 36, 1959.

191) TALA P., LIETO J. V. and KYLLÖMES N. – *Practical blood volume measurements with 51CrCl3 and 131I-H.S.A.* – Ann. Med. Exp. Fenn., 34: 226, 1956.

192) TUDHOPE G. R. and WILSON G. M. – *The use of rubidium 86 as a label for red cells.* – Brit. J. Haemat., 2: 75, 1956.

193) VANOTTI A. – *Die Eisenfunktion der Zellhämine.* In: *Der Eisenstoffwechsel.* – 1959, S. 58.

194) VASQUEZ O. N., NEWERLY K., YALOW R. S. and BERSON S. A. – *Determination of trapped plasma in the centrifuged erythrocytes volume of normal human blood with radioiodinated (^{131}I) human serum albumin and radiosodium (^{24}Na).* – J. Lab. & Clin. Med., 39: 595, 1952.

195) VEREL D. – *Observation on the distribution of plasma and red cells in disease.* – Clin. Sc., 13: 51, 1954.

196) VETTER H. und VEALL N. – *Radioisotopen-Technik in der klinischen Forschung und Diagnostik.* Urban & Schwarzenberg, 1960.

197) WADSWORTH G. – *The blood volume of normal woman.* – Blood 9: 1205, 1954.

198) WALLER H. D. und SCHMIDTS W. – *Ein neues Verfahren zur Bestimmung des gesamten im Organismus enthaltenen Blutfarbstoffs.* – Klin. Wschr., 38:

483, 1960.

199) WALSH R. J., THOMAS E. D., CHOW S. K., FLUHARTY R. G. and FINCH C. A. – *Iron metabolism. Hemosynthesis in vitro by immature erythrocytes.* – Science, 110: 396, 1949.

200) WASSERMANN L. R., RASHKOFF I. A., LEAVITT D., MAYER J. and PORT S. – *The rate of removal of radioactive iron from the plasma. An index of erythropoiesis.* – J. Clin. Invest., 31: 32, 1952.

201) WASSERMANN L. R., YOU T. and RASHKOFF I. A. – *Blood volume determinations: Comparison of T-1824 and 32P labeled red cell methods.* – J. Lab. & Clin. Med., 37: 342, 1951.

202) WEINSTEIN J. M. and BEUTLER E. – *The use of ^{51}Cr and ^{59}Fe in an combined procedure to study erythrocyte production and destruction in normal human subjects and in patients with hemolytic or aplastic anemia.* – J. Lab. & Clin. Med., 45: 616, 1955.

203) WEINSTEIN J. M. and LE ROY G. V. – *Radioactive sodium chromate for the study of survival of red blood cells. II: The rate of hemolysis in certain hematological disorders.* – J. Lab. & Clin. Med., 42: 368, 1953.

204) WÖHLER F. – *Über das Depoteisen Ferritin.* – In: *Eisenstoffwechsel*, Thieme, 1959, S. 67.

205) WOLF F. und WHITE S. – *Zur in vivo-Messung der Erythrozyten-Lebensdauer mittels der 51Cr-Methode bei Gesunden und Kranken.* – In: *Radioaktive Isotope in Klinik und Forschung*, Band 4, Urban & Schwarzenberg, 1959, S. 169.

206) YALOW R. S: and BERSON S. A. – *The use of ^{42}K-tagged erythrocytes in blood volume determinations.* – Science, 111: 14, 1951.

LEBENSLAUF

Am 12.9.1938 wurde ich als Sohn des praktischen Tierarztes Dr. Erwin Kuni und seiner Ehefrau Ilse, geb. Umbach, in Wertheim/ Main geboren. Ich bin deutscher Staatsbürger und evangelisch getauft.

Nach 4 Jahren Volksschulbesuch bestand ich die Aufnahmeprüfung in das humanistische Gymnasium Wertheim, das ich vom 3.9. 1948 an besuchte. Am 26.2.1957 schloss ich den Besuch dieser Schule mit der Reifeprüfung ab, wobei ich den Schulpreis für besondere Leistungen in den Naturwissenschaften erhielt.

Zum Sommersemester 1957 immatrikulierte ich mich zum Studium der Medizin an der Universität Heidelberg. Am Ende des Sommersemesters 1959 absolvierte ich die ärztliche Vorprüfung mit dem Urteil sehr gut. Nach einem klinischen Semester setzte ich das Studium seit Sommersemester 1960 am der Universität Marburg fort. Seit dieser Zeit arbeitete ich als Doktorand an der Abteilung für Strahlenbiologie und Isotopenforschung unter der Leitung von Prof. Dr. Dr. E. H. Graul. Für meine Arbeit *Ein Beitrag zur Radioisotopendiagnostik: Hämatologische Untersuchungen mit* ^{51}Cr *und* ^{59}Fe erhielt ich am 23.6.1962 den Preis der Medizinischen Fakultät. Am 13.9.63 habe ich die ärztliche Prüfung mit dem Urteil « sehr gut » bestanden. Z. Z. arbeite ich als Medizinal-Assistent an der inneren Abteilung des Krankenhauses der ev. Diakonissenanstalten Karlsruhe-Rüppurr.

Meine akademischen Lehrer waren die folgenden Herren Professoren und Dozenten der Universitäten

Heidelberg: Altmann, Appel, Bauer, Becke-Goehring, Bingel, Göpfert, Hardegg, Hartert, Haselmann, Hasselbach, Haxel, B. Hess, Hoepke, Janz, Kantner, Kopfermann, Kutscher, Ludwig, Matthes, Mechelke, Portzehl, Quadbeck, Querner, Randerath, Rauh, Reinbach, Rudert, H. Schaefer, Schmier, Seybold, Staudinger, Steiner, Stoll, Tellenbach, Trautwein, Vogt, C. F. Wendt, Wittig,

und *Marburg*: Beckmann, Berendes, Bock, Braun-Falco, Eggstein, Ehrhardt, Exner, Förster, Gedigk, Gerock, Graul, Gross, Hamm,

Harbauer, F. Hartmann, Heite, F. Hess, Heuser, Hildebrandt, Hornung, Huber, Hundeshagen, Jacob, Kaufmann, Lang, Linneweh, Löhr, v. Manger-König, Marx, Maurath, du Mesnil de Rochemont, Meyer, H. A. Müller, Neubauer, Nieth, Niessing, Oehme, Oehmig, Prinz, Rodeck, W. Schmid, Schölmerich, Schrappe, Schwaiger, Siegert, Siess, Stender, Straub, Streicher, Süsse, Waller, Würterle.

NACHWORT ZUR 2. AUFLAGE

Für die elektronische Publikation als 2. Auflage 2006 wurde der Text ohne Eingriff in die damalige Rechtschreibung der ersten Drucklegung 1963 erfasst. Lediglich offenkundige Satzfehler und typographische Fehler wurden korrigiert. Für den Satz des Erstdruckes haben wir uns bei dem Verlag der Zeitschrift Acta Isotopica, Padua, CEDAM (Casa Editrice Dott. Antonio Milani) zu bedanken.

Es wurde versucht, Satzspiegel und Typographie möglichst originalgetreu zu reproduzieren. Die Abbildungen wurden aus dem Erstdruck erfasst und lediglich reproduktionsbedingte Artefakte unter Beibehaltung des Charakters der damaligen Handzeichnungen beseitigt.

Die nachfolgende ausführliche deutsche Zusammenfassung sowie die Zusammenfassungen in Englisch, Französisch und Italienisch waren im Erstdruck 2006, der den Universitätsbibliotheken abgeliefert worden war, nicht enthalten. Wir haben wir sie den Abdrucken der Dissertation in der Acta Isotopica entnommen, in der die Dissertation in den drei Teilen unter Nennung von E. H. Graul und H. Hundeshagen als Koautoren publiziert worden war (2: 299-317, 319-341 und 343-370, 1963).

AUSFÜHRLICHE ZUSAMMENFASSUNG

Theoretische und methodische Fortschritte in der nuklearmedizinischen Hämatologie.

TEIL I: *Blutvolumen- und Ery-Vita-Bestimmung mit ^{51}Cr-markierten Erythrozyten.*

Nach kurzer Besprechung der Methodik der Blutvolumen-Bestimmung im allgemeinen und der herkömmlichen Technik unter Verwendung von ^{51}Cr-Erythrozyten sowie der homologen Schnellmethode mit markierter Blutkonserve im besonderen wird die Entwicklung einer autologen Schnellmethode geschildert. Sie arbeitet auf Ionenaustauscherbasis und gestattet die Markierung patienteneigener Erythrozyten innerhalb von ca. 10 Minuten.

Im Abschnitt über die Ermittlung der ^{51}Cr-Ery-Vita werden Befunde erwähnt, die für eine mit ihrem Alter zunehmende Cr-Aufnahme der Erythrozyten sprechen. Diese aus durch Zentrifugieren gewonnenen Erythrozyten verschiedenen Alters erhaltenen Ergebnisse zeigen, dass die besondere Form der ^{51}Cr-Vita-Kurve nicht oder nur zum Teil auf eine « Cr-Elution » zurückzuführen ist. Verschiene Methoden zur Umrechnung der ^{51}Cr-Vita in mittlere Erythrozyten-Lebenszeit und ihre Problematik werden diskutiert.

TEIL II: *Eisenstoffwechsel und Ferrokinetics.*

Es werden die Bedeutung des Modells von POLLYCOVE für die Untersuchung des Eisenstoffwechsels mit ^{59}Fe und die Schwierigkeiten bei der Ermittlung der nötigen Messwerte geschildert. Deshalb messen wir die langsame Ratenkonstante und die sehr geringe spezifische Aktivität des Plasmaeisens einige Tage nach ^{59}Fe-Injektion im 24-Stunden-Sammelurin nach i.v.-Injektion eines eiseneliminierenden Präparates (Desferrioxamin).

Die Utilisationskurve wird durch eine Gleichung beschrieben, die nicht nur die Messung der üblichen Ratenkonstanten gestattet, sondern auch die Bestimmung des Erythroblasten-Eisen-Pools mit einer Routine-Methode.

Es werden Gleichungen angegeben, die den Einfluss der Eisenabwanderung in das RES in besonderen Fällen berücksichtigen sowie die Tatsache, dass die Form der Utilisationskurve bei starker Hämolyse nicht von der Produktion, sondern vom Abbau der Erythrozyten bestimmt wird.

TEIL III: *Praxis der Erythrokinetics und Messtechnik.*

Ausser der Erythrokinetic-Methode, die ^{51}Cr-Erythrozyten und ^{59}Fe simultan verwendet, wird ein Verfahren beschrieben, das die Auswertung älterer Untersuchungen ohne Kenntnis der spezifischen Aktivität des Plasmaeisens einige Tage nach ^{59}Fe-Injektion mit Hilfe der Utilisationskurve nach den Gesichtspunkten des Modells von POLLYCOVE gestattet.

Die Messmethodik wurde so verbessert, dass wir uns meist mit einer Blutentnahme von jeweils nur 0,1 ml begnügen können. Es wird der Vorteil der Messung geringer spezifischer Aktivität im Sammelurin demonstriert. Als Beispiel für die Anwendung der Simultan-Oberflächenmessung werden interessante Befunde bei einem Fall von familiärem hämolytischen Ikterus geschildert.

SUMMARY

Theoretical and methodological progresses of Nuclear Medicine in Hematology.

PART I: *Blood volume and determination of red cell life span with ^{51}Cr-labelled erythrocytes.*

After a short discussion about the methods of the blood volume determination and the conventional methods using ^{51}Cr-erythrocytes as well as the homologous rapid method with labelled preserved blood, the development of an autologous rapid method is described. The latter is based upon an ion exchanger and makes it possible to label the patient's own erythrocytes in approximately ten minutes.

The section discussing the determination of ^{51}Cr-ery-vita data indicates the importance of an increased Cr-uptake of aging erythrocytes. The data obtained from centrifuges erythrocytes of different ages display a specific shape ^{51}Cr-vita-curva which is only partly explained by a « ^{51}Cr-elution ». Different methods of converting the ^{51}Cr-vitas in the erythrocyte's mid life cycle and the nature of these curves are discussed.

PART II: *Iron metabolism and ferrokinetics.*

This report discusses the importance of the model of POLLYCOVE for the investigation of iron metabolism with ^{59}Fe. The difficulties encountered in determination of values are discussed. The slow disappearance rate and the very low specific activity of the plasma iron was therefore determined a few days following the injection of ^{59}Fe in a 24 hour sample of urine subsequent to a n i. v. injection of an iron eliminating substance (desferrioxamine).

The curve of utilization is described by an equation which not only permits measurement of the conventional disappearance rate but also the determination of the iron pool of erythroblasts by a routine method.

The formulated equations consider the influence of the migration of iron into the RES as well as the fact that – when a strong hemolysis is present – the curve is dependent upon destruction, not production, of erythrocytes.

PART III: *Study and determination of erythrokinetics.*

A procedure for the study of erythrokinetics simultaneously using ^{51}Cr-erythrocytes and ^{59}Fe is discussed. A method is presented, which permits the analysis of previous information which is obtained without knowledge of the plasma iron specific activity. This was accomplished with the aid of the utilization curve according to the model of POLLYCOVE.

By improving the method of measurement, only 0.1 ml of blood was required. The advantage of the measurement of low specific activities in urine is demonstrated. Interesting results of a familial hemolytic jaundice are given as an example of the simultaneous surface measurement.

RÉSUMÉ

Le progrès théorétiques et méthodologiques de l'hématologie nucléaire.

PREMIERE PARTIE: *Détermination du volume sanguin et de la ^{51}Cr-vita des hématies.*

Après avoir parlé de la méthode pour déduire le volume sanguin total en général et de la technique traditionnelle en employant des ^{51}Cr-hématies ainsi que de la méthode rapide homologue avec conserve du sang marquée en particulier, on décrit le développement d'une nouvelle méthode rapide.

Celle-ci fonctionne au moyen d'échange d'ions et permet de marquer les hématies du sujet à examiner dans 10 minutes environ.

Dans la partie traitant la recherche de la ^{51}Cr-vita des hématies nous faisons mention de résultats parlant en faveur d'incorporation globulaire du ^{51}Cr augmenté selon l'âge avancé des hématies. Ces résultats que nous avons trouvés par l'épreuve d'hématies d'âges divers obtenues par centrifugation montrent que la forme spéciale de la courbe de ^{51}Cr-vita ne peut pas être attribuée – ou ne s'attribue qu'en partie – à une « ^{51}Cr-elution ».

Des méthodes diverses pour convertir la ^{51}Cr-vita dans une durée de vie moyenne des hémaies et leurs questions problématiques sont discutées.

DEUXIEME PARTIE: *Métabolisme du fer et ferrokinétique*.

Nous avons décrit l'importance du modèle de POLLYCOVE pour l'étude du métabolisme du fer avec ^{59}Fe et les difficultés d'aboutir aux données de mesure indispensables. Pour cette raison nous mesurons la constante de la deuxième partie de la courbe de décroissance de la radioactivité plasmatique et la radioactivité spécifique très basse du fer plasmatique quelques jour après l'injection de ^{59}Fe dans l'urine recueillie dans 24 heures après i.v.-injection d'une préparation éliminant le fer (Desferrioxamine).

La courbe de l'utilisation globulaire du fer se décrit par une équation que ne permet pas seulement de mesurer la constante exponentielle usuelle mais aussi de fixer le pool erythroblastique du fer par méthode routinière.

Nous donnons des équations qui rendent compte de l'influence du mouvement du fer dans le RES dans des cas particuliers ainsi que du fait que la forme de la courbe d'utilisation ne se détermine pas – dans le cas d'hémolyse forte – par la production mais par la destruction des hématies.

TROISIEME PARTIE: *Application pratique de l'erythrocinetique et technique de la mésuration.*

A côté de la méthode erythrocinetique employant des ^{51}Cr-hématies et ^{59}Fe simultanément nous décrivons un procédé permettant l'exploration de recherches précédents sans connaisance de l'activité spécifique du fer plasmatique quelques jours après l'injection de ^{59}Fe à l'aide de la courbe d'utilisation globulaire du fer selon les points de vue modèle de POLLYCOVE.

La méthode de mesurer a été tellement améliorée que, dans la plupart des cas, nous pouvons nous contenter d'enlever seulement 0,1 ml de sang par chaque mesure. On démontre l'avantage de mesurer des activités spécifique basses dans l'urine recueillie. En tant qu'exemple pour l'emploi de la mesure simultanée de la sarface nous décrivons des résultats intéressants observés dans un cas d'ictère hémolytique familière.

RIASSUNTO

Progressi teoretici e metodologici in ematologia con uso di radioisotopi.

NOTA I: *Determinazione della massa sanguigna e della vita eritrocitaria per mezzo di eritrociti marcati con ^{51}Cr.*

Dopo breve discussione sulla metodica di determinazione della massa sanguigna in generale, e sulla tecnica tradizionale con l'impiego di eritrociti marcati con ^{51}Cr e sull'omologo metodo rapido con sangue conservato marcato in particolare, viene descritto lo sviluppo di un metodo rapido autologo.

Esso si basa su di una reazione a tipo di scambio ionico e permette di marcare eritrociti propri del paziente nel tempo di circa 10 minuti.

Nel capitolo sulla determinazione della vita eritrocitaria con ^{51}Cr, si fa menzione di reperti che parlano in favore di una assunzione con Cr degli eritrociti che va crescendo con la loro età.

Questi risultati ottenuti da eritrociti di diversa età, ricavati mediante centrifugazione, mostrano che la forma particolare della curva « vita eritrocitaria ^{51}Cr » non risale o risale solo in parte ad una « eluzione del ^{51}Cr ». Vengono discusso metodi diversi per la conversione della vita eritrocitaria con ^{51}Cr in tempo medio di vita eritrociti e la loro problematica.

NOTA II: *Metabolismo del ferro e ferrocinetica.*

Sì discutono l'importanza del « modello di POLLYCOVE » per lo studio del metabolismo del ferro con ^{59}Fe e le difficoltà incontrate per ottenere i valori di misurazione necessari.

Perciò noi misuriamo le componenti lente della curva plasmatica e la piccolissima attività specifica del ferro plasmatico alcuni giorni dopo la iniezione di ^{59}Fe in un campione di urina delle 24^{h} dopo aver iniettato in vena un preparato chelante del ferro (desferrioxamine).

La curva di utilizzazione viene descritta con una equazione che permette non solo la misurazione delle usuali componenti lente della curva plasmatica, ma anche la determinazione del pool labile eritropoietico con una metodica di routine.

Vengono enunciate delle equazioni che tengono conto dell'influsso della migrazione del Fe nel S.R.E. in particolari casi, come pure del fatto che la forma della curva di utilizzazione

NOTA III: *Utilizzazione della ferrocinetica e tecnica di determinazione.*

Oltre al metodo della cinetica eritrocitaria con impiego contemporaneo di eritrociti-^{51}Cr e di ^{59}Fe, viene descritto un metodo che permette di utilizzare, alcuni giorni dopo l'iniezione di ^{59}Fe, dati precedentemente ottenuti senza conoscere l'attività specifica del ferro plasmatico. Ciò è possibile con l'aiuto di una curva di utilizzazione ottenuta secondo il modello di POLLYCOVE.

La tecnica di misurazione è stata migliorata, cosicché noi possiamo lavorare con una quantità di sangue di soli 0,1 cc. Viene dimostrato il vantaggio di misurare nel campione di urina una attività specifica cosi piccola. Come esempio per l'impiego della misurazione simultanea di superficie vengono descritti degli interessanti rilievi in un caso di ittero emolitico familiare.